THESIS

MUNICH

1957

Methodenkritische Arbeit über quantitative und qualitative Beziehungen fibrinolytisch und antifibrinolytisch wirkender Substanzen

Peter Clemente

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR
PALO ALTO, CALIFORNIA

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154008_0183

AUS DER 1. MEDIZINISCHEN KLINIK
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Professor Dr. H. SCHWIEGK

METHODENKRITISCHE ARBEIT ÜBER QUANTITATIVE UND QUALITATIVE BEZIEHUNGEN FIBRINOLYTISCH UND ANTIFIBRINOLYTISCH WIRKENDER SUBSTANZEN.

INAUGURAL - DISSERTATION
ZUR
ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
IN DER GESAMTEN MEDIZIN
VERFASST UND EINER
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER LUDWIG - MAXIMILIANS - UNIVERSITÄT
ZU MÜNCHEN
VORGELEGT
VON

PETER CLEMENTE
AUS ALTENMARKT/ALZ

1957

MIT GENEHMIGUNG DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

REFERENTEN: PROF. DR. H. SCHWIEGK
PRIV. DOZ. DR. R. MARX

DEKAN: PROF. DR. W. BICKENBACH

TAG DER MÜNDLICHEN PRÜFUNG: 6.6.1957

Herrn Prof. Dr. H. Schwiegk danke ich für die Übernahme des Referates.

Herrn Priv. Doz. Dr. R. Marx danke ich für die Überlassung des Themas sowie für seinen Rat, mit dem er mich in allen Stadien der Arbeit unterstützte.

Die Versuche wurden im Hämatologischen Labor der 1. Medizinischen Klinik der Universität München in der Zeit vom 1. November 1955 bis zum 15. August 1956 durchgeführt.

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

Allgemeiner Teil

A. Zur Geschichte, heutigen Auffassung und klinischen Bedeutung der 4. Phase der Blutgerinnung. 1

B. Methodik: 9

I. Thrombelastographie 9

II. Visueller Fibrinolyse-Test (VFT) 16

III. Visueller Fibrinogenolyse-Test (VFgT) 17

IV. Verzeichnis der Instrumente und Reagenzien, die zur Ausübung der drei Methoden notwendig sind. 20

C. Zusammenstellung und Angabe der wichtigsten Daten der im Verlauf der Arbeit verwendeten Fibrinolytica und Antifibrinolytica. 22

I. Fibrinolytica 22

II. Antifibrinolytica 26

Experimenteller Teil

Erster Teil: Testung quantitativer und qualitativer Beziehungen zwischen Fibrinolytica und Antifibrinolytica an Hand dreier Methoden, die ihrerseits kritisch gewertet wurden in Hinsicht auf ihre Brauchbarkeit.

1. Kapitel: Die Eigenwirkung der als Fibrinolyse-Inhibitoren verwendeten Substanzen:

A. L e b e r - Inhibitor (LI) 30
B. P a r o t i s - Inhibitor (OI) 32
C. S o j a b o h n e n t r y p s i n - Inhibitor (SbI) 33
D. E i - Inhibitor (EiI) 35
E. P r o t e i n a s e n - Inaktivator (ProtI) 37

2. Kapitel: S t r e p t o k i n a s e (SK)

A. Ihre Eigenwirkung 38
B. Ihre Hemmung durch Leber-Inhibitor 46
C. Ihre Hemmung durch Parotis-Inhibitor 50
D. Ihre Hemmung durch Sojabohnentrypsin-Inhibitor 53
E. Ihre Hemmung durch Ei-Inhibitor 55

3. Kapitel: P l a s m i n (Fbl)

A. Seine Eigenwirkung 57
B. Seine Hemmung durch Leber-Inhibitor 65
C. Seine Hemmung durch Parotis-Inhibitor 69
D. Seine Hemmung durch Sojabohnentrypsin-Inhibitor 73
E. Seine Hemmung durch Ei-Inhibitor 77
F. Anhang: Proteinasen-Inaktivator im VFgT 79

4. Kapitel: T r y p s i n (Tr)

A. Seine Eigenwirkung 81

B. Seine Hemmung durch Leber-Inhibitor 90

C. Seine Hemmung durch Parotis-Inhibitor 94

D. Seine Hemmung durch Sojabohnentrypsin-Inhibitor 98

E. Seine Hemmung durch Ei-Inhibitor 102

F. Anhang: Proteinasen-Inaktivator im VFgT 107

5. Kapitel: C h y m o - T r y p s i n (ChTr)

A. Seine Eigenwirkung 109

B. Seine Hemmung durch Leber-Inhibitor 114

C. Seine Hemmung durch Parotis-Inhibitor 117

D. Seine Hemmung durch Sojabohnentrypsin-Inhibitor 118

E. Seine Hemmung durch Ei-Inhibitor 122

F. Anhang: Proteinasen-Inaktivator im VFgT 126

6. Kapitel: Z u s a m m e n f a s s u n g

A. der Methodenkritik 128

B. der Fibrinolyse und Fibrinogenolyse 132

C. der Fibrinolysehemmung 134

D. der Fibrinogenolysehemmung 136

Zweiter Teil: Studien über das Verhalten von recalcifiziertem Kaninchencitratplasma gegenüber Streptokinase und Parotis-Inhibitor sowie Darstellung fibrinolytischer und antifibrinolytischer Vorgänge am Kaninchen in vivo mit Hilfe des Nativblut-Thrombelastogramm.

1. Kapitel: K a n i n c h e n - Citratplasma, sein Verhalten

A. gegenüber Streptokinase 139

B. gegenüber Streptokinase und Parotis-Inhibitor 141

2. Kapitel: I n v i v o - Versuche am Kaninchen dargestellt im Nativblut - T E G

A. Wirkung von Streptokinase 142

B. Ihre Hemmung durch Leber-Inhibitor 147

C. Ihre Hemmung durch Parotis-Inhibitor 148

D. Ihre Hemmung durch Proteinasen-Inaktivator 149

3. Kapitel: Z u s a m m e n f a s s u n g der Versuche mit Kaninchenblut 151

Anhang: Versuch eines Nachweises der möglicherweise antiproteolytischen Wirkung von Rastinon "D 860" 152

Abkürzungsverzeichnis 154

Literaturverzeichnis 156

ALLGEMEINER TEIL

A. Zur Geschichte, heutigen Auffassung und klinischen Bedeutung der 4. Phase der Blutgerinnung.

Das Phänomen der Fibrinolyse, i.e. Proteolyse des Fibrins im engeren Sinn, ist schon den Forschern des 19. Jahrhunderts bekannt gewesen. In seiner Bedeutung für die Klinik aber wurde dieser Vorgang verkannt, des öfteren fehlgedeutet oder nur mangelhaft gedeutet, weil man ihn lange Zeit nur grob fassen konnte. Bedingt durch die Fortschritte biochemischer Methodik, wurde jedoch im Laufe der letzten 50 Jahre der die Fibrinolyse bedingende Mechanismus weitgehend aufgeklärt und die wesentlichen Faktoren isoliert, so daß damit der Klinik ein Rüstzeug von eminent praktischer Bedeutung in die Hand gegeben wurde, was seit 15 Jahren zu umfangreichen klinischen Studien auf dem Gebiet der 4. Phase der Blutgerinnung geführt hat. Wurde doch dadurch z. B. unser Wissen um das Wesen der Entzündung einen großen Schritt vorangebracht. In praktischer Hinsicht braucht man nur an das Thromboseproblem zu erinnern. Auf diese Weise wurde die Fibrinolyse bzw. Proteolyse zum modernsten Zweig der "Hämostaseologie" (R. MARX).

DASTRÈ (1) erkannte 1893 als erster die fibrinolytischen Eigenschaften des Blutes selbst und prägte den Ausdruck "Fibrinolyse". RULOT (2) führte 1904 die Fibrinolyse auf ein Ferment

zurück, das angeblich von den Leukocyten abgegeben werden sollte. MORAWITZ (3) legte das Hauptgewicht auf die Fibrinogenolyse. Er bezeichnete die postmortale Leichenblutverflüssigung bei völligem Fehlen von Fibrinogen als fermentative "Fibrinogenolyse". NOLF (4) studierte 1921 die durch Chloroformzusatz zu Plasma ausgelöste Fibrinolyse. Gemeinsam mit HOUGARDY (5) betrachtete er die Fibrinolyse als Fortsetzung der Gerinnung, i.e. als 4. Phase der Blutgerinnung. Er nahm aber kein eigenes fibrinolytisches Ferment an, sondern schreibt die Fibrinolyse der weiteren Fermentwirkung des Thrombin zu, was mit den Experimenten von R. MARX (6) teilweise übereinstimmt. HEKMA (7) sah in der Fibrinolyse lediglich einen der Gerinnung entgegenlaufenden Prozeß, eine Umwandlung des Fibrins vom Gel- in den Sol-Zustand. Als erster begann ROSENMANN (8) im Jahre 1920 die fibrinolytisch wirkende Substanz des Blutes systematisch zu untersuchen, wobei er ein trypsin-ähnliches Ferment fand, das er anfangs Fibrinolysin, später Thrombolysin nannte. Er stellte es zuerst aus Pferdefibrin her, das er der Autolyse überlassen hatte und dann mit Alkohol, Ammonsulfat und Chlorzink ausfällte. 1936 konnte er dieselbe Substanz auch im Serum nachweisen (9). Schließlich wurde das Fibrinolysin von KLINE (10) im Jahre 1953 kristallin dargestellt. Daß das fibrinolytisch wirkende Ferment des Blutes ständig in inaktiver Form vorhanden ist, stellten schon 1896 DENYS und MARBAIX (11) fest. Sie konnten es mit Chloroform, Äther oder Thymol aktivieren.

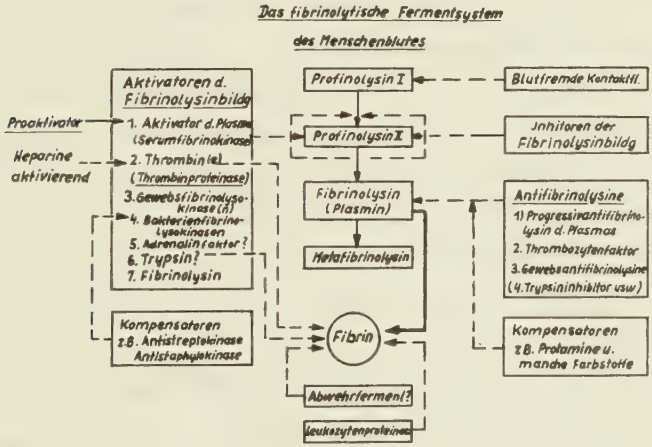
Ein weiterer wesentlicher Faktor im Mechanismus der Fibrinolyse ist die Existenz einer Fibrinokinase, jetzt Fibrinolysokinase genannt, die schon 1915 von LOEB und FLEISCHER (12) in verschiedenen Gewebszellen gefunden wurde und durch die Untersuchungen von SCHMITZ (13) weitere Klärung fand. Die Wirkungsweise der Fibrinolysokinase erfuhr zwei Auslegungen: Nach der einen sollen durch sie Hemmkörper, die sich an den einzelnen Proteinen befinden, inaktiviert werden (SCHMITZ (13), DYCHERHOFF, MIEHLER und TADSEN (14)), nach der anderen soll durch sie das inaktive Profibrinolysin im Serum aktiviert werden. Diese Auffassung machten UNGAR und MIST (15) wahrscheinlich, die auf Grund ihrer Untersuchungen auch eine Serumfibrinolysokinase annehmen (heutige Auffassung).

Eine wesentliche Entdeckung verdanken wir weiterhin TILLET und GARNER (16), die eine Kinase aus bakterienfreien Filtraten hämolytischer Streptokokken erhalten konnten, die wasserlöslich und nicht dialysabel ist. 1938 konnte MILSTONE (17) nachweisen, daß es sich dabei um eine echte Kinase handelt, die im Sinne einer Enterokinase wirkt. CHRISTENSEN (18) nannte sie Streptokinase. Nach den Untersuchungen von MÜLLERTZ (19) wurde jedoch wahrscheinlich, daß die Streptokinase nicht direkt mit dem Profibrinolysin reagiert, sondern daß sie einen Proaktivator, nämlich eine Serumfibrinolysokinase aktiviert, die ihrerseits das Profibrinolysin aktiviert. Ganz allgemein wirken natürlich alle proteolytischen Fermente lytisch auf das Fibrin ein. Dem System der Aktivatoren des Profibrinolysins steht auf

der anderen Seite das System der Inhibitoren gegenüber, dem man in jüngster Zeit besonders viel Beachtung schenkt, sowohl was die Auffindung dieser Substanzen anlangt, als auch deren Darstellung. Zunächst wären hier die unter dem Einfluß von Kinasen bzw. Fibrinolysin entstehenden Antikinasen bzw. Antifibrinolysin zu nennen. So glauben UNGAR und MIST (20), daß die Fibrinolysokinase durch eine Antifibrinolysokinase inaktiv gehalten wird. Die unter dem Einfluß von Streptokinase entstehende Immunoantistreptokinase wurde von KAPLAN (21), ANDERSON, KUNKEL und McCARTY (22), sowie RATNOFF (23) eingehend untersucht. Die Annahme eines Antifibrinolysins ist schon ebenso alt, wie die Annahme eines Fibrinolysins. Schon HILDEBRANDT (24) beschrieb 1893 einen Hemmstoff des proteolytischen Enzyms im Blut. Leider konnte bis heute dieser Stoff noch nicht gereinigt identifiziert werden. ROSENMANN (25) wies eine Hemmsubstanz in tuberkulösen Pleuraexsudaten nach. KAPLAN (26) und GROB (27) machten durch ihre Arbeiten wahrscheinlich, daß manche Antiproteasen ein Produkt der Eiweißhydrolyse sind. Damit wäre im Falle einer Entzündung ein zweckmäßiger Regulationsmechanismus gegeben, indem die bei der Entzündung proteolytisch entstehenden Menkinstoffe ihrerseits als Antiproteasen dem Eiweißabbau entgegenwirken würden. Tatsächlich konnte CHRISTENSEN (28) bei chronischen Entzündungen ein enormes Ansteigen des Antifibrinolysintiters feststellen.

Wir sehen also, daß der Mechanismus der Fibrinolyse im wesentlichen geklärt ist. Im Zentrum des Geschehens steht das Fibrinolysin, auch Plasmin genannt, welches im Blut in inaktiver Vorstufe vorhanden ist und durch ein System von Aktivatoren und Inhibitoren gesteuert wird, jetzt zum Teil auch schon experimentell in vitro und in vivo gesteuert werden kann.

Nach R. MARX (29) hat man sich diesen Funktionskreis ungefähr folgendermaßen vorzustellen:



Wie schon eingangs erwähnt, wurde mit der Aufdeckung dieser biochemischen, enzymologischen Zusammenhänge das Interesse der Klinik dafür und für seine praktische Nutzanwendung groß. Man lernte dadurch manche pathophysiologischen Vorgänge ihrer Pathogenese noch besser verstehen und man versucht nun aktiv einzugreifen bei Fehlsteuerungen der Fibrinolyse im Sinne einer "Hämenzymtherapie" der Fibrinolyse (R. MARX), sei es nun die Fibrinolyse zu inhibieren oder zu aktivieren. Die Bedeutung der Fibrinolyse für die Klinik wurde von einigen Forschern schon früh erkannt. So beschrieb schon DASTRE (30) im Jahre 1893 eine Fibrinolyse bei Leberkrankheiten. DELEZENNE und POZERSKI (31) beobachteten verstärkte Fibrinolyse am geronnenen Plasma während des Schockzustandes. McFARLANE (32) und IMPERATI (33) stellten eine erhebliche Fibrinolysinaktivitätszunahme nach Operationen fest. McFARLANE und BIGGS (34) fanden in weiteren Untersuchungen das gleiche Phänomen schon vor der Operation und erklärten es mit der Operationsangst. Tatsächlich konnten R. MARX und ROESCH (35) nach Adrenalininjektion eine Steigerung der Fibrinolyse beobachten. HALSE und LOSSNITZER (36) stellen hierbei mehr den Einfluß des Vegetativums in den Vordergrund. SOULIER (37) berichtete aus Paris von 8 Verblutungsfällen nach Pneumektomie, wobei er im Blut eine rasante Fibrinolyse nachweisen konnte. Zu einer enormen Fibrinolysinaktivierung kommt es auch bei der sog. "missed abortion".

Hier liegen also einige wesentliche Indikationsgebiete zum ret-

tenden Eingreifen in das fehlgesteuerte Fibrinolysesystem durch Injektion von Antiproteasen. Auch könnte man eventuell versuchen, die exsudativen Entzündungsformen durch Inhibitoren zu stoppen (exsudative Tuberkulose), sowie phlegmonöse Entzündungen. Umgekehrt kommt es aber oft zum Ausfall von Fibrin im Verlauf einer Entzündung, das der Körper mangels fibrinolytischen Potentials nicht wieder auflösen kann und zu Schwarten organisiert wird. Gerade für das Thromboseproblem könnte die Fibrinolyse überragende Bedeutung erlangen.

Die Vertiefung und Erweiterung des Verständnisses allgemein pathophysiologischer Probleme wurde bereits kurz gestreift. R. MARX (38) stellt die Proteolyse als 6. Kardinalsymptom der Entzündung neben die 5 klassischen tumor, rubor, calor, dolor et functio laesa. Auch im Gebiet der Allergosen scheint man durch die Fibrinolyse zu neuen Vorstellungen über deren Wesen zu kommen. So faßt R. MARX (38) einen Teil der Allergisierungsprozesse als Herauslösung von Eiweißstoffen aus Erregern ("heteroendogene Allergene") bzw. als Teildenaturierung von körpereigenem Eiweiß durch Blutproteinasen ("autoendogene Allergene") auf. Ebenso erfährt der anaphylaktische Schock durch genauere Kenntnis der Fibrinolyse eine bessere Klärung dahingehend, daß durch die Aktivierung der Blutproteinasen nicht nur Fibrinogen bzw. Fibrin abgebaut wird, sondern durch sie auch Histamin freigesetzt wird (DRAGSTEDT (39)).

Zusammenfassend kann man feststellen, daß die 4. Phase der Blutgerinnung ein für die Klinik bedeutungsvolles Gebiet ist. Leider steht die therapeutische Steuerbarkeit des fibrinolytischen Funktionskreises noch am Anfang, so daß auf diesem Gebiet noch ein reiches Arbeitsfeld bleibt.

Vorliegende Arbeit beschäftigt sich damit, die Hemmung fibrinolytischer und fibrinogenolytischer Vorgänge mit verschiedenen zum Teil noch nicht näher in ihrer Einwirkung auf fibrinolytische Fermente bekannten Inhibitoren quantitativ und qualitativ zu erfassen an Hand drei verschiedener Methoden. Außerdem wurden am Kaninchen Experimente mit Streptokinase und Antifibrinolytica in vivo gemacht und deren Wirkungen mit Hilfe des Nativblutthrombelastogrammes darzustellen versucht.

B. Methodik

Die methodenkritische Aufgabe dieser Arbeit beruht darin, die Brauchbarkeit der TEG-Methode zur Darstellung der Fibrinolyse und Fibrinolyseinhibition, sowie Fibrinogenolyse und Fibrinogenolyseinhibition näher zu prüfen an Hand des visuellen Fibrinolysetestes und dem visuellen Fibrinogenolysetest, den R. MARX als erster zur Erfassung antifibrinogenolytischer Vorgänge verwendet.

I. Thrombelastographie:

Nachdem HARTERT (40) in der "Thrombelastographie" eine brauchbare Methode gefunden hatte, die Strukturfestigkeit des nativen Blutthrombus zu prüfen, lag es nahe anzunehmen, daß die Änderung der Strukturfestigkeit des Fibrins nach Zusatz proteolytischer Fermente direkt proportional dem jeweiligen Fibrinolysegrad des Blutgerinnsels sei. Tatsächlich kann man charakteristische Veränderungen des Thrombelastogramms nach Zusatz proteolytischer sowie antiproteolytischer Fermente feststellen. V. KAULLA (41) fertigte bereits Thrombelastogramme mit Zusatz von Trypsin an. Inwieweit die Kurvenänderungen des TEG tatsächliche Veränderungen am Gerinnsel wiedergeben, versuchten wir mit Hilfe des visuellen Fibrinolysetestes bzw. Fibrinogenolysetestes nachzuweisen.

Im Prinzip handelt es sich beim TEG um die Prüfung der Strukturfestigkeit des Thrombus. Bei der Bildung des Gerinnsels in der sich um 4° 45' drehenden Cuvette, wird ein in die Cuvette hineinragender Stift ebenfalls zur Drehung um seine Achse veranlaßt. Die Drehung des Stiftes ist somit Ausdruck der Festigkeit des Gerinnsels.

Folgende Einzelheiten sind noch zum besseren Verständnis der TEG-Methode erforderlich (zitiert nach HARTERT (40)):
"Ein Thrombelastograph besitzt eine bis mehrere zylindrische Cuvetten von 8 mm Durchmesser und 12 mm Höhe, in die ein zylindrischer Stift von 6 mm Durchmesser zentrisch soweit hineinragt, daß der Stift von den Seitenwänden etwa ebensoweit entfernt ist, wie von seinem Boden (Abb. 1). Beide Teile sind aus poliertem V-2-A Stahl, einem Material, das noch etwas weniger benetzbar ist, als Hartgummi, d. h. es hat eine derart niedrige Oberflächenspannung gegen Wasser, daß die Thrombusretraktion aufgehoben ist. Der Stift ist mit einem 0,2 mm dicken Stahldraht (2 cm lang) an einem Festpunkt aufgehängt. Am oberen Ende des Stiftes befindet sich ein kleiner Spiegel. Die Stahlcuvette sitzt in einem um die senkrechte Achse drehbaren Sockel. Die minimale Drehung (Hin- und Her-) erfolgt durch eine mechanische Vorrichtung so, daß die Sehne des bogenförmigen Ausschlages genau gleich 1/12 des Radius 4° 45' ist (Abb. 2)."

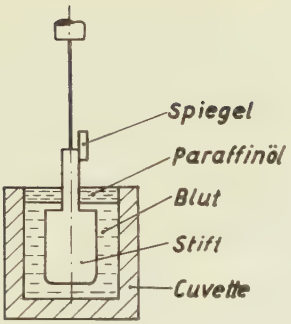


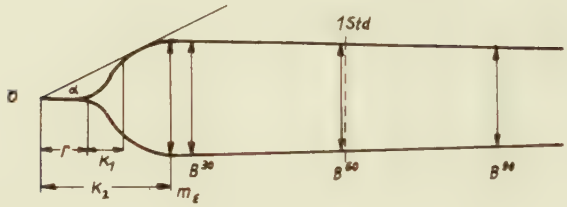
Abb. 1

Abb. 2

Bringt man nun frisch entnommenes normales Venenblut in die auf 37° geheizte Cuvette und deckt sie zum Schutz gegen Austrocknung mit Paraffinöl ab, so werden bei eingeschaltetem Apparat etwa nach 4 bis 6 Minuten geringe Ausschläge sichtbar, die kontinuierlich zunehmen, bis die Differenz der Ausschläge nach etwa 30 Minuten ein Maximum erreicht haben. 5 - 20 Minuten ändert sich dann an den Spiegelzeigerausschlägen wenig, schließlich beginnen sie langsam und gleichmäßig abzunehmen.

Auswertung des Thrombelastogramms (TEG): Die ursprünglich von HARTERT angegebene Methode zur Auswertung des TEG hat schon einige Änderungen erfahren. Nach dem Vorschlag von R. MARX werden die TEG in dieser Arbeit durch die Methode von HARTERT ausgewertet, modifiziert von BELLER, KOCH und MAMMEN (42). Diese Modifikation hat den Vorteil, ein TEG auch in Tabellenform darstellen zu können, um speziell für Fragen der Fibrinolyse eine exaktere Definition zu haben durch Einführung der Bezeichnungen

B^{30}, B^{60}; B^{90} (siehe unten).



2 mm = 1 Minute

ε = Elastizität, sie wird nach der von HARTERT angegebenen Formel $\frac{a \times 100}{(100 - a)}$ errechnet, wobei a die Amplitude der Ausschläge gemessen in mm bedeutet.

r = Reaktionszeit entsprechend der Nomenklatur von HARTERT; sie wird vom O-Punkt aus gemessen bis zu der Stelle, wo die Kurve breiter als 1 mm wird.

K_1 (= K nach HARTERT) wird gemessen vom Ende der Reaktionszeit bis zur Kurvenverbreiterung auf 20 mm.

K_2 entspricht der Zeit, die vom O-Punkt an bis zum Erreichen von m_ε verstreicht.

m_ε entsprechend der Angabe HARTERTS, stellt die maximale Thrombusfestigkeit dar, gemessen an der breitesten Stelle des TEG.

B^{30}, B^{60}, B^{90} wurden neu eingeführt, um eine exakte Angabe über die Elastizitätsabnahme in der Zeit zu erhalten und bedeuten die Elastizität der Kurve nach 30, 60, 90 Minuten. Die Berechnung dieser Werte erfolgt ebenfalls nach der von HARTERT angegebenen Formel für ε.

I (Index) = tgα x 80, d.h. den Gerinnungsindex I (index coagulabilité von DELLA SANTA (43) zusätzlich eingeführt) erhält man, wenn man vom O-Punkt aus an die Kurve des TEG eine Tangente zieht, den Tangens des Winkel α errechnet und mit 80 multipliziert.

LT = Lysis totalis, wurde von uns eingeführt und wird gemessen vom Ende der Reaktionszeit bis zum Elastizitätsabfall der Kurve auf 1 mm.

Ein tabellarisch erfaßtes TEG im Bereich der Norm hat nach BELLER, KOCH und MAMMEN (42) folgende Streubreite und folgendes Aussehen:

Vers. Nr.		Quick Ind	in Minuten r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Ind
I	Normalbereich	80 100	9'- 14'	5'- 8'	40' -50'		90- 180	60- 150	80- 150	70- 150	70- 140

Der bisher verwendete Thrombelastograph besitzt 3 Cuvetten, wodurch 3 TEG zu gleicher Zeit im Abstand von je 1 cm auf ein und demselben Film registriert werden können. Diese Anordnung ist daher sehr geeignet für vergleichende Studien. Da ja schon der Normalbereich des TEG erheblichen Schwankungen unterworfen ist, und wir außerdem hauptsächlich nur Patientenblut zur Verfügung hatten, setzten wir bei jeder Versuchsanordnung einen Leer-

bzw. Nullwert an, was uns erlaubt, exaktere Schlüsse aus der Fermentwirkung zu ziehen.

Das Gerinnungspotential des jeweils verwendeten Blutes wurde durch die Prothrombinbestimmung nach der Einphasenmethode nach QUICK näher bestimmt. Wir füllten also die Cuvetten immer so, daß sie eine geschlossene Versuchsanordnung ergaben, wobei die Gesamtmenge immer 0,3 ccm betrug plus 0,06 ccm $CaCl_2$ zur Recalcifizierung des Gemisches:

Sämtliche Versuchsanordnungen wurden, sofern nicht anders angegeben, nach folgendem Schema ausgeführt:

I. Leerwert:

0,2 ccm Plasma + 0,1 ccm phys.NaCl + 0,06 ccm $CaCl_2$ 1,29%

II. Ansatz mit proteolytischem Ferment:

0,2 Plasma + 0,05 proteol.Ferm. + 0,05 phys.NaCl + 0,06 $CaCl_2$

III. Ansatz mit proteol. Ferment und Fibrinolyse-Inhibitor:

0,2 Plasma + 0,05 proteol.Ferm. + 0,05 Inhibitor + 0,06 $CaCl_2$

Beim Nativblut-TEG, das wir als Methode bei den in vivo Versuchen an Kaninchen benutzten, gingen wir folgendermaßen vor:

Nach sauberem Ausrasieren der Ohrvene entnahmen wir zuerst mit steriler Spritze 2,5 ccm Citratblut 1:4, dann ließen wir eine Cuvette voll natives Blut laufen, die wir als Leerwert sofort in das TEG setzten. Anschließend spritzten wir eine bestimmte Menge proteolytisches Ferment nach, das wir 2-5' einwirken lie-

ßen. Dann nahmen wir wiederum Blut für das TEG ab, spritzten sofort den Inhibitor nach und ließen ihn ebenfalls 3 - 6 Minuten einwirken, bis wir das 3. TEG abnahmen. Je nach Bedarf erfolgten nach einiger Zeit weitere Blutabnahmen.

II. Visueller Fibrinolyse-Test (VFT):

Im Prinzip handelt es sich darum,die Gerinnungszeit eines Gerinnsels und seine totale Auflösung unter Sicht des Auges zu verfolgen und genau zu stoppen.

Die Apparatur besteht aus einem Bunsenbrenner, der einen mit Wasser gefüllten Glaskolben ständig auf 37° Celsius hält. Der Glaskolben wird durch einen Kork verschlossen, der mehrere Löcher aufweist, durch die man kleine Uhlenhutgläschen stecken kann. In der Mitte des Korken wird ein Thermometer hindurchgesteckt. In die Glasröhrchen werden nun Plasma, proteolytisches Ferment und Inhibitor in gleichen Mengenverhältnissen wie beim TEG hineinpipettiert und mit 0,06 ccm $CaCl_2$ recalcifiziert. Zu gleicher Zeit werden zwei Stoppuhren abgedrückt. Mit einem Häkchen aus Kupferdraht bewegt man das Gemisch nun solange bis es gerinnt und stoppt zugleich die erste Uhr. Wenn daran anschließend die Totallysis eintritt, stoppt man zum 2. Mal. Die von R. MARX und KIMMERLING (44) entdeckte Beeinflußbarkeit der Fibrinolyse durch Sauerstoff und Grenzflächen kann hier angesichts der Rasanz der Fibrinolyse vernachlässigt werden.

Die zu den TEG- und VFT-Versuchen benötigte Plasma erhielten wir wie folgt: In einer sterilen Spritze legten wir 0,4 ccm 3,8%iges Natrium-Citrat vor und zogen nach Punktion der Vene 1,6 ccm Blut nach, also im Verhältnis der BKS nach Westergreen. Anschließend wurde, wie erwähnt, die Prothrombinbestimmung durchgeführt.

III. Visueller Fibrinogenolyse-Test modifiziert nach R. MARX zur Darstellung der Wirkung von Antifibrinolytica.

FERGUSON (45) fand Fibrinogen als das optimale Trypsintestsubstrat. In Anlehnung dessen versuchte R. MARX (46) die durch Zugabe von Standardthrombin zeitlich fixierbare Fibrinogenolyse der routinemäßig gewonnenen Globulinfraktionen von Plasmen als Maß der vorhandenen Plasmatrypsinaktivität zu bestimmen.

Zu gleicher Zeit versuchten zunächst UNGAR (47), dann UNGAR und MIST zusammen (48) die Fibrinolysinaktivität von Trypsin an Hand von Fibrinogenolyse festzustellen.

Die Methode von UNGAR und MIST sei zum Vergleich und zum Verständnis kurz wiedergegeben:

Sie pipettierten 0,2 ccm einer 0,2%igen Fibrinogenlösung in auf p_H 7,4 gepufferter, physiol. NaCl-Lösung in eine Reihe kleiner Röhrchen, fügten verschiedene Mengen Enzymlösung zu und brachten das Gesamtvolumen mit gepufferter Physiol. NaCl-Lösung auf 0,4 ccm. Nach 30 Minuten langer Inkubation bei 37,5° Celsius gaben sie in jedes Röhrchen je 1 gtt einer Thrombinlösung. Diejenige Enzymkonzentration bei der gerade keine Gerinnung eintrat, wird als Enzymeinheit bezeichnet und daraus die Enzymkonzentration der Ausgangslösung in Einheiten berechnet.

R. MARX modifizierte diese Methode zum Gebrauch für Antifibrinolytica wie folgt:
Man geht aus von einem Fibrinogen-Puffer Gemisch, das nach Zugabe von Thrombin in 4 bis 6 Sekunden gerinnt. Gibt man nun zum

Fibrinogen-Puffergemisch ein proteolytisches Ferment zu, so wird die Gerinnungszeit verlängert mit steigender Inkubationszeit, d.h. wenn die Thrombinzugabe erst nach verschieden langen Inkubationszeiten erfolgt. Tritt nach Thrombinzugabe innerhalb 15 Minuten keine Gerinnung mehr auf, so nimmt FERGUSON (45) einen völligen Fibrinogenabbau an. Die Fibrinogenolyse ist daher umso größer, je größer die Gerinnungszeitverzögerung ist. Das jeweilig quantitative Ausmaß der Fibrinogenolyse interessiert uns in dieser Arbeit nicht, da wir die Grenzwerte der Antifibrinogenolytica in Hinsicht auf die völlige Verhinderung der Fibrinogenolyse quantitativ testeten bei bekannter Konzentration an proteolytischem Ferment.

Im Einzelnen führten wir den Test folgendermaßen aus:

I. Leerwert, d.h. die Gerinnungszeit des Fibrinogen-Puffergemisches geprüft innerhalb bestimmter Zeitabstände durch Zugabe von Thrombin:

0,2 ccm Fbg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 phys.NaCl + 0,1 Th60E/ccm

Zeitabstände:	2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
Gerinnungszeit:	5,4"	5,2"	5,2"	5,2"	5,2"	5,2"	5,2"

II. Versuchsreihe mit Proteinaseninkubation: Dabei wurde zur Testung der Antifibrinolytica jeweils eine solche Konzentration an Fibrinolytica gewählt, die bei 20' Inkubation keine Gerinnungsverzögerung von mehr als 2 Minuten aufweist, da man dadurch Wirkungen kleinster Mengen Antifibrinolytica besser erfassen kann.

0,2 Fbg(0,6%) + 0,05 Puff. + 0,05 Proteinase + 0,05 NaCl + 0,1Th

Inkubationszeit:	2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
Gerinnungszeit:	7"	10"	20"	40"	60"	100"	2'

III. Versuchsreihe: Proteinase + Proteinasen-Inhibitor; hiermit können wir die Inhibitordosis feststellen, die bei gegebener Konzentration an proteolytischem Ferment die Fibrinogenolyse eben noch völlig verhindert, sowie diejenigen Mengen, die sie nur unvollkommen hemmen:

0,2 Fbg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,05 Proteinase + 0,05 Inh. + 0,1Th

Inkubationszeit:	2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
Gerinnungszeit:	5,4"	5,3"	5,2"	5,2"	5,4"	5,3"	5,4"

Zur Ausübung des VFgT benötigt man die gleichen Instrumente wie für den VFT.

IV. Verzeichnis der Instrumente und Reagenzien, die zur Ausübung der drei Methoden notwendig sind:

Instrumente:

1. Thrombelastograph nach HARTERT
2. Instrumente zur Ausübung des VFT und VFgT:
   - Bunsenbrenner
   - Haltegestell
   - Glaskolben
   - Uhlenhutröhrchen
   - Kupferdrahthäkchen
   - Thermometer
   - Kork
   - Stoppuhren
3. Pipetten aller Art
4. Reagenzgläser
5. Rekordspritzen
6. Kanülen
7. Watte
8. Zentrifuge
9. Zentrifugengläser
10. Holzständer für Reagenzgläser

Reagenzien:

1. Physiologische Kochsalzlösung
2. Aqua bidest.
3. Na-Citrat 3,8 %
4. Xylol
5. Fibrinogen "Behringwerke" in 0,6%iger Lösung
6. Thrombokinase-Calcium
7. Thrombin "Behringwerke" und "La Roche"
8. Puffer p_H 7,6 als Veronalpufferlösung
   "Behringwerke" 20 ccm/Amp.
9. $CaCl_2$ 1,29%ig
10. Paraffin

C. Zusammenstellung und Angabe der wichtigsten Daten der im Verlauf der Arbeit verwendeten Fibrinolytica und Antifibrinolytica.

I. Als Fibrinolytica wurden verwendet:

1. S t r e p t o k i n a s e (SK):

Streptokinase wurde 1933 von TILLET und GARNER (16) entdeckt. Zur Gewinnung der Streptokinase züchtet man entsprechende Streptokokkenstämme (H 105, Gruppe A, Stamm CO der Gruppe A, Stamm H 46 A der Gruppe C) auf geeigneten Nährböden (25, 48, 23). Man glaubte zunächst, daß sie mit dem Fibrinolysin identisch sei. Die Arbeiten von ASTRUP und PERMIN (50), LEWIS, FERGUSON und JACKSON (51), LEWIS und FERGUSON (52), PERMIN (53), MILSTONE (17) zeigten jedoch, daß die Streptokinase allein unwirksam ist und ihre Wirkung in einer Aktivierung des Profibrinolysins besteht. Weitere Untersuchungen von MÜLLERTZ (19) sowie MÜLLERTZ und LASSEN (54) ergaben, daß die Streptokinase nicht das Profibrinolysin selbst aktiviert, sondern an der Vorstufe des eigentlichen Aktivators des Profibrinolysins angreift. Diese Vorstufe ist hitzelabil und verschwindet, wenn man ein Plasma 1 Stunde lang auf 56° erhitzt. Streptokinase hat antigenen Charakter und führt zur Bildung von Antistreptokinase (22, 23).

Wir verwendeten folgende Präparate:

a) Varidase (Streptokinase 100 000 E - Streptodornase 25 000 E) "Lederle" für in vitro Versuche. Da Streptokinaselösung nur einen Tag haltbar ist, und wir für unsere Versuche nur eine beschränkte Anzahl Varidasepakkungen zur Verfügung hatten, waren wir gezwungen, auf mg-% überzugehen. Gemäß unseren Nachprüfungen befinden sich aber in den einzelnen Fläschchen genau 50 mg, so daß wir wieder auf Einheiten umrechnen konnten.

Lösung 100 mg-%: 0,05 ccm = 100 E
Lösung 50 mg-%: 0,05 ccm = 50 E
Lösung 25 mg-%: 0,05 ccm = 25 E
(1 E = 0,5 γ)

b) Für in vivo Versuche hatten wir Varidase (Streptokinase 130 000 E - Streptodornase 21 600) zur Verfügung. Sie wurde jeweils direkt in physiologische NaCl aufgelöst.

2. P l a s m i n :

Plasmin wurde von KLINE (10) kristallin isoliert. Es ist in der Fraktion III/3 nach Cohn enthalten, verhält sich wie ein Globulin (53) und soll nach den Angaben von ROCHA E SILVA und RIMINGTON (55) ein Lipoproteid sein. Im menschlichen Plasma finden sich 572 CHRISTENSEN-Einheiten (49) bzw. 400 - 900 LOOMIS-Einheiten (56) Profibrinolysin, die bei Rheumatismus, Tuberkulose, Karzinom (49) vermehrt sind.

Wir verwendeten folgende Präparate:

a) Plasmin "Behringwerke" 300 E/mg, streptokinase-aktiviert

Lösung 200 mg-%: 0,05 ccm = 30 E

Lösung 100 mg-%: 0,05 ccm = 15 E

1 E = 3,3 γ

b) Plasmin "Behringwerke" 400 E/mg, streptokinase-aktiviert

Lösung 200 mg-%: 0,05 ccm = 40 E

Lösung 100 mg-%: 0,05 ccm = 20 E

1 E = 2,5 γ

3. T r y p s i n :

Trypsin und Trypsinogen wurden von NORTHROP und KUNITZ (57) im Jahre 1931 isoliert und kristallin dargestellt. 1936 fanden die gleichen Autoren, daß Trypsinogen autokatalytisch durch Trypsin in Trypsin umgewandelt werden kann (58). Ebenso durch Enterokinase, die durch KUNITZ (59) in gereinigter, aber nicht kristalliner Form hergestellt wurde. Trypsin besitzt ein Molekulargewicht von 65 000.

Wir verwendeten folgendes Präparat:

"T r y p u r e N o v o"

Kristall. Trypsin, dialysiert und lyophilisiert der Fa.

"Novo terapeutisk Laboratorium A/S"

Inhalt pro Fläschchen 50 mg.

Lösung 100 mg-%: 0,05 ccm = 50 γ

1 g = 22 - 25 Ansoneinheiten

4. C h y m o - T r y p s i n :

Chymotrypsinogen und Chymotrypsin wurden 1935 von KUNITZ und NORTHROP (60) isoliert und kristallin dargestellt. Für beide wird ein Molekulargewicht von 22 000 - 25 000 angegeben. Chymotrypsinogen wird nur durch Trypsin aktiviert, nicht durch Enterokinase oder Chymotrypsin selbst. Im Gegensatz zu Trypsin zeigt das Chymotrypsin eine größere Fähigkeit, Milch zur Gerinnung zu bringen und beschleunigt die Blutgerinnung nicht. FRUTON und BERGMANN (61) machten wahrscheinlich, daß Chymotrypsin nicht nur als Endopeptidase sondern auch als Exopeptidase fungieren kann.

Wir verwendeten folgendes Präparat:

Chymotrypsin Op. 2, dialysiert.

Lösung 200 mg-%: 0,05 ccm = 100 γ

10 ccm Chymotrypsinlösung 200 mg-%ig wurden jeweils 24 Stunden vorher mit 0,1 mg Trypsin ("Trypure Novo") aktiviert.

II. Als Antifibrinolytica wurden verwendet:

1. Leber-Inhibitor (LI):

Der Leber-Inhibitor ist in Bezug auf die Inaktivierungsfähigkeit gegenüber Kallikrein dem Parotisinhibitor gleich. Er wird von WERLE und APPEL (62) aus Lebern von Rindern oder anderen Säugetieren gewonnen und auf das 10 - 50 000-fache angereichert. Die reinsten Präparate zeigen einen Reinheitsgrad von 0,6 - 0,8 γ/IE in Konzentrationen bis zu 15 000 IE/ccm. Sie erscheinen einheitlich und zeigen bisher keine Wirkung auf den Kreislauf. Anaphylaxie wurde bisher nicht beobachtet. Der Leber-Inhibitor stellt ein Polypeptid dar, hemmt ebenfalls Trypsin und Chymotrypsin, ist aber vom Parotis-Inhibitor chemisch und wahrscheinlich auch pharmakologisch verschieden.

Wir verwendeten folgende Präparate aus dem Labor von Prof. Dr. Dr. E. WERLE:

1. Leber-Inh. R 950 : 1 000 IE/ccm ; 20,0 γ/IE
2. Leber-Inh. R 1564 : 4 000 IE/ccm ; 5,9 γ/IE
3. Leber-Inh. R 1237 : 6 000 IE/ccm;; 1,1 γ/IE
4. Leber-Inh. R 1548 : 1 000 IE/ccm ; 0,4 γ/IE
5. Leber-Inh. R 1653 : 4 000 IE/ccm

Alle Präparate waren ohne Zusatz von Cialit.

2. Parotis-Inhibitor (OI):

Der Parotis-Inhibitor wurde von KRAUT, FREY und WERLE (63) im Jahre 1931 aus der Parotis von verschiedenen Tieren ge-

wonnen. Er stellt ein Mucopolypeptid dar, das die Fähigkeit hat, die Kreislauf- und Darmwirkung des Kallikreins reversibel aufzuheben. Die Reinigung gelang bis zu einem Reinheitsgrad von 0,2 γ/IE. (1 Inaktivatoreinheit = 1 IE, stellt diejenige Menge organischer Substanz dar, die 1 Einheit Kallikrein zu inaktivieren vermag).

Von WERLE, MAIER und RINGELMANN (64) wurde 1952 eine Hemmung von Trypsin und Chymotrypsin durch Parotis-Inhibitor festgestellt. Dieser OI wird für Laboruntersuchungen von der Fa. Bayer - Leverkusen hergestellt. Synonyme Bezeichnungen: Ohrspeicheldrüsen-Inhibitor, OI und "Kallikrein"-Inaktivator.

Wir verwendeten folgendes Präparat:

Parotis-Inhibitor "Bayer - Leverkusen" OI (S 1771)

Parotis-Inh. S 1771 : 1 000 IE/ccm ; 4 γ/IE

2 000 IE enthalten 50γ Cialit gemäß Nachprüfungen von APPEL.

3. Sojabohnentrypsin-Inhibitor (SbI):

Der Sojabohnentrypsin-Inhibitor stellt einen Inhibitor dar, der Trypsin, nicht aber Kallikrein zu inaktivieren bzw. zu hemmen vermag. Er wurde von KUNITZ (65) 1945 aus der Sojabohne kristallisiert dargestellt. Er stellt ein Protein oder Polypeptid mit einem Molekulargewicht von 24 000 dar. Die Wirkungsweise des Sojabohnen-Inhibitors im Gerinnungsmechanismus wurde vor mehreren Autoren genau untersucht (66).

Wir verwendeten folgendes Präparat:

Soybean Trypsin Inhibitor S 5297

Worthington Biochemical Sales Co.

Ansatzweise: Wir gaben 10 mg SbI zusammen mit 5 ccm physiol. NaCl in ein Zentrifugenglas. Wir ließen das Gemisch 30 Minuten bei Zimmertemperatur unter mehrmaligem Aufschütteln stehen und zentrifugierten dann scharf ab. Der ungelöste Rest betrug jeweils 1,75 mg, d.h. wir verwendeten jeweils eine 165 mg-%ige Stammlösung.

Lösung 165 mg-%: 0,05 ccm = 82,5 γ

4. Ei-Inhibitor:

BALLS und SWENSON (67) konnten im Eiklar von Hühnereiern einen Trypsin-Inhibitor nachweisen. LINEWEAVER und MURRAY (68) identifizierten ihn als wasserlösliches Ovomucoid. Es stellt ein Glykoproteid dar, das 21,6 % Kohlehydrat enthält und ein Molekulargewicht von 29 000 besitzt. Untersuchungen über die Einwirkung des Ei-Inhibitors auf Gerinnungsfermente lagen bisher nicht vor.

Bei der Herstellung und Ansatzweise von Ei-Inhibitor gingen wir wie folgt vor:

Wir fällten 20 ccm Eiklar eines frisch gelegten Eies in Aceton aus und erhielten so 14 g feines Eipulver.

Bei der Herstellung der Stammlösung schwemmten wir 70 mg Eipulver in 5 ccm physiol. NaCl auf, und ließen sie 30 Minuten bei Zimmertemperatur unter mehrmaligem Umrühren stehen.

Alsdann zentrifugierten wir scharf ab. Dabei gingen jedesmal etwa 25 mg Eipulver in Lösung, so daß wir eine 500 mg-%ige Stammlösung erhielten.

Lösung 500 mg-%: 0,05 ccm = 250 γ

Eiklar-Inhibitor: Diese Bezeichnung verwendeten wir, wenn wir das ungefällte native Hühnereiweiß als Inhibitor benutzten.

5. Proteinasen-Inaktivator:

Unter der Bezeichnung "Bayer" A 128" wird von der Fa. Bayer - Leverkusen ein Hemmkörper für Proteinasen und Kallikrein hergestellt. Dieses Präparat stellt ein reines Parotis-Inhibitor- oder ein Parotis-Leber-Inhibitor Mischpräparat dar. Näheres ist nicht bekannt.

Wir verwendeten folgendes Präparat:

Proteinasen-Inaktivator (A 128/ S 2 348) 1 000 IE/ccm; 8 γ /IE.

EXPERIMENTELLER TEIL

E r s t e r T e i l : Testung quantitativer und qualitativer Beziehungen zwischen Fibrinolytica und Antifibrinolytica an Hand dreier Methoden, die ihrerseits kritisch gewertet wurden in Hinsicht auf ihre Brauchbarkeit.

1. Kapitel:

Die Eigenwirkung der als Fibrinolyseinhibitoren verwendeten Substanzen.

A. L e b e r - Inhibitor (LI):

I. Im T E G: LI (R1564) 4 000 IE/ccm; 5,9 γ/IE
LI (R1548) 1 000 IE/ccm; 0,4 γ/IE

Vers. Nr.		Quick Jnd.	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{00}	Jnd.
I	1. Leerwert	95	10	14	52		32	27	30	28	18
	2. LJ (R 1564): 0,05 = 200 JE		23		60		24	11	22	23	9
	Änderung 1 zu 2 in %		+130		+15		-25	-60	-27	-18	-50
II	1. Leerwert	95	10	14	52		32	27	30	28	18
	2. LJ (R1564): 0,05 = 200 JE		27		68		25	4	22	19	9
	Änderung 1 zu 2 in %		+170		+30		-22	-85	-27	-34	-50
III	1 Leerwert	95	4	6,5	30		96	96	89	82	77
	2 LJ (R1548): 0,1 = 100 JE		8	2,5	12		33	13	11	8	42
	Änderung 1 zu 2. in %		+100		-60		-66	-85	-88	-90	-45
IV	1. Leerwert	95	4	6,5	30		96	96	89	82	77
	2. LJ (R1548): 0,1 = 100 JE		9	3	13		30	11	10	8	39
	Änderung 1. zu 2. in %		+123		-57		-67	-89	-89	-90	-50

Die Reaktionszeit r ist bei 100 - 200 IE um das 2 bis 2,5 fache verlängert, der Index fällt jeweils um die Hälfte ab, was durch das verlängerte r bedingt ist.

Bei Versuch I und II fällt die Elastizität des Gerinnsels um etwa 30 % ab, die Kurven weisen keine Zeichen von Pseudofibrinolyse auf. Bei Versuch III und IV haben wir hingegen einen starken E-Verlust um 65 - 90 %, die Kurven verschmälern sich unter Bildung von unregelmäßigen Zacken, in der Kurveninnenfläche ist Schlierenbildung erkennbar. Daß es sich um Pseudofibrinolyse handelt, bestätigt sich auch an den übrigen Versuchen mit LI.

II. Im Gerinnungstest LI (R1653) 4 000 IE/ccm

1. Phase: d.h. im Überschuß von Thrombokinase + Calcium

	Gerinng.
0,2 Pl + 0,1 Aqu.dest. + 0,2 ThCa	14,3"
+ 0,1 LI 4 000 IE/ccm: 400 IE	14,4"

2. Phase: d.h. bei Zugabe von Thrombin

	Gerinng.
0,2 Pl + 0,1 Aqu.dest. + 0,2 Thr	13,1"
+ 0,1 LI 4 000 IE/ccm: 400 IE	13,0"

Weder auf die 1. Phase noch auf die 2. Phase der Blutgerinnung konnten wir mit dieser Versuchsanordnung einen Einfluß durch Leber-Inhibitor nachweisen. Die Reaktionszeitverlängerung im TEG entspricht also wahrscheinlich einer Beeinflussung der Vorgerinnungsphase.

III. Im V Fg T : LI (R1564) 4 000 IE/ccm; 5,9 γ/IE

1. Leerwert:

0,2 Fg(0,6%) + 0,05Puff.7,6 + 0,1 NaCl + 0,1 Th 60E/ccm (Behr.Werke

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
3,5"	3,5"	3,5"	3,7"	3,5"	4,5"	4,5"

2. LI 4 000 IE/ccm: 0,1 ccm = 400 IE:

0,2 Fg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 LI 400 IE + 0,1 Th 60/ccm

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,0"	5,0"	5,1"	5,0"	5,2"	6,0"	5,5"

Im V Fg T können wir keine Fibrinogenolyse durch LI nachweisen, d.h. das Leberinhibitorpräparat war ohne proteolytische Aktivität.

B. P a r o t i s - Inhibitor (OI):

OI (S 1771) 1 000 IE/ccm; 4 γ/IE

I. Im T E G : OI 1 000 IE/ccm

Vers. Nr.		Quick Jnd.	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Jnd.
I	1. Leerwert	100	4	1,5	18		203	194	138	127	139
	2. OJ : 0,1 ccm = 100 JE		4	1	15		150	117	100	92	139
	Änderung 1. zu 2. in %		0	-33	-17		-27	-40	-28	-27	0
II	1. Leerwert	100	4	1,5	18		203	194	138	127	139
	2. OJ : 0,1 ccm = 100 JE		4	1	16		163	127	104	96	139
	Änderung 1. zu 2. in %		0	-33	-11		-29	-35	-25	-25	0

Der Parotis-Inhibitor zeigt im TEG keinen Einfluß auf r, was sich auch in den übrigen Versuchen bestätigte. Versuch I und II verlaufen ohne Zeichen einer Pseudofibrinolyse. Die Elastizität ist im ganzen Verlauf um 30 - 40 % gedrückt gegenüber dem Leerwert, K_1 verkürzt.

II. Im V Fg T : 0 I 1 000 IE/ccm

1. Leerwert:

0,2 Fg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 NaCl + 0,1 Th 60E/ccm (Behr.W.)

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
3,5"	3,5"	3,5"	3,7"	3,5"	4,5"	4,5"

2. 0I 1 000 IE/ccm: 0,1 ccm = 100 IE:

0,2 Fg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 0I 100 IE + 0,1 Th 60E/ccm

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,0"	5,5"	6,4"	6,5"	5,7"	5,5"	5,6"

Im V Fg T ließ sich durch Parotis-Inhibitor keine fibrinogenolytische Wirkung nachweisen.

C. S o j a b o h n e n t r y p s i n - Inhibitor (SbI):

SbI (S 5297)

I. Im T E G : SbI 165 mg-%: 0,1 ccm = 165 γ

Vers. Nr.		Qu. Jnd	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Jnd
I	1. Leerwert	70	7	3	29		174	170	170	156	74
	2. SbJ unv.: 165 γ		38	6	61		160	0	156	156	21
	Änderung 1. zu 2. in %		+440	+100	+110		-9	-100	-8	0	-72
II	1. Leerwert	70	8	2	26		190	186	178	153	80
	2. SbJ unv. 165 γ		48	8	87		174	0	52	170	15
	Änderung 1. zu 2. in %		+500	+300	+230		-9	-100	-71	+10	-81

Die Reaktionszeit r ist um das 4 bis 5 fache verlängert, die maximale Elastizität sinkt jeweils nur um 9 %. Die Kurven weisen keine Zeichen von Pseudofibrinolyse auf.

II. Im Gerinnungstest SbI 165 mg-%: 0,1 ccm = 165 γ

1. Phase: d.h. im Überschuß von Thrombokinase + Calcium

	Gerinng.
0,2 Pl + 0,1 Aqu.dest. + 0,2 ThCa	15,4"
+ 0,1 SbI 165 mg-%: 165 γ	24,4"
+ 0,1 SbI 1 : 10 : 16,5 γ	15,6"

2. Phase: d.h. bei Zugabe von Thrombin

	Gerinng.
0,2 Pl + 0,1 Aqu.dest. + 0,2 Thr	8,8"
+ 0,1 SbI 165 mg-%: 165 γ	9,6"
+ 0,1 SbI 1 : 10 : 16,5 γ	9,5"
+ 0,1 SbI 1 : 20 : 8,3 γ	9,0"

Der VFT zeigt, daß der gerinnungshemmende Mechanismus sich in der ersten Phase der Blutgerinnung abspielt, während auf die zweite Phase kein Einfluß erkennbar ist. Ob die Vorgerinnungsphase beeinflußt wird, müssen noch weitere Untersuchungen zeigen.

III. Im V Fg T : SbI 165 mg-%: 0,05 ccm = 82 γ

1. Leerwert:

0,2 Fg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 NaCl + 0,1 Th 60 E/ccm La Roche

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,1"	5,0"	5,0"	5,0"	5,1"	5,2"	5,0"

2. SbI 165 mg-%: 0,05 ccm = 82 γ :

0,2 Fg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,05 SbI + 0,05 NaCl + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,3"	5,3"	5,4"	5,4"	5,5"	5,5"	5,4"

Sojabohnentrypsin-Inhibitor läßt im V Fg T keine fibrinogenolytischen Eigenschaften erkennen.

D. E i - Inhibitor (EiI):

I. Im T E G : EiI 500 mg-%: 0,1 ccm = 500 γ

Vers. Nr.		Qu. Ind.	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Ind.
I	1. Leerwert	98	4,5	3	26		72	70	67	64	56
	2. EiJ unv. 500 γ		4,5	3,5	30		69	69	64	59	54
	Änderung 1. zu 2. in %		0	+17	+15		-4	-1	-5	-8	-4
II	1. Leerwert	98	4,5	3	26		72	70	67	64	56
	2. EiJ unv. 500 γ		4	3	27		67	67	64	59	56
	Änderung 1. zu 2. in %		-11	0	+4		-7	-4	-5	-8	0

II. Im Gerinnungstest — EiI 500 mg-%: 0,1 ccm = 500 γ

Eiklar-Inhibitor

1. Phase: d. h. im Überschuß von Thrombokinase + Calcium

	Gerinng.
0,2 Pl + 0,1 NaCl + 0,2 ThCa	15,0"
+ 0,1 Eiklar-Inh.: 1 : 5	16,3"
+ 0,1 Eiklar-Inh.: 1 : 10	15,1"
+ 0,1 EiI 500 mg-%: 500 γ	15"

2. Phase: d. h. bei Zugabe von Thrombin

	Gerinng.
0,2 Pl + 0,1 NaCl + 0,2 Thr	12,5"
+ 0,1 Eiklar-Inh.: 1 : 5	13,2"
+ 0,1 Eiklar-Inh.: 1 : 10	13,0"
+ 0,1 EiI 500 mg-%: 500 γ	12,9"

III. Im V Fg T : — EiI 500 mg-%: 0,05 ccm = 250 γ

1. Leerwert:

0,2 Fg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 NaCl + 0,1 Th 60 E/ccm La Roche

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,1"	5,0"	5,0"	5,0"	5,1"	5,2"	5,0"

2. EiI 500 mg-%: 0,05 ccm= 250 γ :

0,2 Fg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,05 EiI + 0,05 NaCl + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,6"	5,5"	5,5"	5,4"	5,4"	5,4"	5,5"

Zu I, II und III: Im TEG läßt sich auch durch hohe Mengen von EiI kein deutlicher Effekt gegenüber dem Leerwert nachweisen. Ebenso zeigt der Ei-Inhibitor sowohl auf die 1. als auch auf die 2. Phase der Blutgerinnung nur einen sehr geringen hemmenden Einfluß. Auch deckt der VFgT keine proteolytische Eigenwirkung des Ei-Inhibitors auf. Der EiI stellt demnach eine in Beziehung auf den Gerinnungsmechanismus wenig wirksame Substanz dar.

E. Anhang:

Die Wirkung von Proteinasen-Inaktivator auf die 1. und 2. Phase der Blutgerinnung:

ProtI (A 128/S 2 348) 1 000 IE/ccm; 8 γ/IE

1. Phase: d.h. im Überschuß von Thrombokinase + Calcium

	Gerinng.
0,2 Pl + 0,1 Aqu.dest. + 0,2 ThCa	14,3"
+ 0,1 ProtI 1 000 IE/ccm: 100 IE	14,6"

2. Phase: d.h. bei Zugabe von Thrombin

	Gerinng.
0,2 Pl + 0,1 Aqu.dest. + 0,2 Thr	13,1"
+ 0,1 ProtI 1 000 IE/ccm: 100 IE	13,0"

Mit dem Proteinasen-Inaktivator "BAYER" konnten wir keinen sicheren Einfluß auf die erste und zweite Phase der Blutgerinnung nachweisen.

2. Kapitel:

Streptokinase, ihre Eigenwirkung sowie ihre Hemmung durch Leber-Inhibitor, Parotis-Inhibitor, Sojabohnen-Inhibitor und Ei-Inhibitor.

A. S t r e p t o k i n a s e (SK), ihre Eigenwirkung:

"V a r i d a s e" : Streptokinase 100 000 E
Streptodornase 25 000 E

I. Im T E G :

Vers Nr.		Qu. Ind	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Ind.
I	1. Leerwert	100	2,5	4,5	40		85	82	80	79	67
	2. SK: 50 E		3		4	120"	3	-	-	-	14
	Änderung 1. zu 2. in %		+20		-90		-97	-100	-100	-100	-79
II	3. SK: 25 E		2,5	5	8,5		27	18	10	6	56
	Änderung 1. zu 3. in %		0		-79		-68	-78	-87	-92	-17
III	4. SK : 12,5 E		2,5	3	9		39	32	28	25	72
	Änderung 1. zu 4. in %		0		-77		-54	-61	-65	-68	+8
IV	1. Leerwert	80	4	2	10		85	43	28	25	96
	2. SK : 50 E		3		4	120"	3	-	-	-	17
	Änderung 1. zu 2. in %		-25		-60		-96	-100	-100	-100	-82
V	1. Leerwert	100	4	1,5	17,5		182	178	150	138	139
	2. SK: 100 E		—	—	—		—	—	—	—	—
	Änderung 1. zu 2. in %		—	—	—		-100	-100	-100	-100	-100
VI	1. Leerwert	100	4	1,5	17,5		182	178	150	138	139
	2. SK : 100 E		—	—	—		—	—	—	—	—
	Änderung 1. zu 2. in %		—	—	-		-100	-100	-100	-100	-100

Vers Nr.		Qu. Ind	r	K_1	k_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Ind.
VII	1. Leerwert	100	4	1,5	21		156	150	133	122	103
	2. SK : 100 E		4		4,5	60"	1,5	–	–	–	9
	Änderung 1. zu 2. in %		0		-79		-99	-100	-100	-100	-91
VIII	1. Leerwert	80	4	2	10		85	43	28	25	96
	2. SK : 25 E		3,5		5	150"	5	—	—	—	16
	Änderung 1. zu 2. in %		-13		-50		-94	-100	-100	-100	-83
IX	1. Leerwert	98	6	14	43		35	25	33	33	34
	2. SK 100 E		–	–	–		–	–	–	–	–
	Änderung 1. zu 2. in %		—	—	–		-100	-100	-100	-100	-100
X	1. Leerwert	80	4	2	24		147	138	113	100	100
	2. SK 25 E		4		2	9	25	—	—	—	74
	Änderung 1. zu 2. in %		0		-92		-83	-100	-100	-100	-26
XI	3. SK : 25 E		4	2	19		89	85	69	47	93
	Änderung 1. zu 3. in %		0		-21		-40	-38	-39	-53	-7
XII	1. Leerwert	80	4	4	24		64	61	54	49	62
	2. SK : 100 E		–	–	–	–	–	–	–	–	–
	Änderung 1. zu 2. i. %		–	–	–		-100	-100	-100	-100	-100
XIII	3. SK : 50 E		3		4	180"	2	—	—	—	6
	Änderung 1. zu 3. in %		-25		-83		-97	-100	-100	-100	-90

Zusammenfassung der prozentualen Änderung

der TEG-Werte sowie LT und r.

Vers. Nr			r	K_2	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Ind	r	LT
	Leerwert		100	100	100	100	100	100	100		
V	Streptokinase	100 E	0	0	0	0	0	0	0		
VI	"	100 E	0	0	0	0	0	0	0		
IX	"	100 E	0	0	0	0	0	0	0		
XII	"	100 E	0	0	0	0	0	0	0		
VII	"	100 E	100	21	1	0	0	0	9	240"	60"
I	"	50 E	120	10	3	0	0	0	21	180"	120"
XIII	"	50 E	75	17	3	0	0	0	10	180"	180"
IV	"	50 E	75	40	4	0	0	0	21	180"	120"
VIII	"	25 E	87	50	6	0	0	0	17	210"	150"
X	"	25 E	100	8	17	0	0	0	74	240"	9'
II	"	25 E	100	21	32	22	13	8	83		
XI	"	25 E	100	79	60	62	21	47	93		
III	"	12,5 E	100	23	46	39	35	32	108		

1. Bei einem mit 100 E Streptokinase aktivierten Plasma sehen wir in 4 Fällen keine Reaktion im TEG. In einem Fall haben wir einen minimalen Ausschlag von 1ε , r = 240", LT = 60".

Im VFT wurde aber gezeigt, daß in jedem Fall eine Gerinnselbildung erfolgt. Das TEG ist daher zur Darstellung von Elastizitätsveränderungen bei 100 E SK unbrauchbar. Als Ursache kommen einmal Pseudofibrinolyse, zum anderen aber ein solcher Elastizitätsverlust des Gerinnsels in Frage, der vom TEG nicht mehr wahrgenommen werden kann.

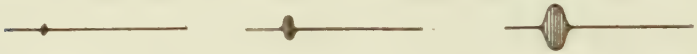
2. Bei einem mit 50 E SK aktivierten Plasma sinkt mε auf 3-4%, r liegt bei 180" und LT zwischen 120" und 180", was mit den Untersuchungen am VFT weitgehend übereinstimmt. Im VFT ist jedoch die Gerinnungszeit um 40" bis 100" kürzer, d. h. daß während dieser Zeit die Elastizität so gering wird, daß sie vom TEG nicht mehr notiert werden kann. Der Ausschlag hinkt also dem Beginn der Gerinnung nach, andererseits zeigt das TEG schon keinen Ausschlag mehr, wenn das Gerinnsel noch nicht ganz aufgelöst ist.
Wegen der weitgehenden Übereinstimmung von VFT und TEG und den unter 5. angeführten Gründen ist also eine Pseudofibrinolyse weitgehend unwahrscheinlich , wir dürfen hingegen diese Kurven als Ausdruck eines echten Elastizitätschwundes infolge Fibrinolyse auffassen. Die geringe Streubreite der TEG-Werte bei gleicher Konzentration von SK ist dadurch bedingt, daß 50 E SK noch einen Überschuß an Streptokinase bedeuten mit folgender gleichmäßig starker Plasminaktivierung.

3. Die große Schwankung der mit 25 E und 12,5 E SK ausgeführten Kurven ist möglicherweise Ausdruck einer teilweisen Inaktivierung der nicht im Überschuß zugegebenen SK infolge

eines besonders im Patientenblut ständig mehr oder weniger vorhandenen Antistreptokinasetiters (22, 23). Pseudofibrinolyse beobachteten wir nur in einem Fall.

4. Die Reaktionszeit r der SK-Kurven ist nicht wesentlich gegenüber dem Leerwert verschieden.

5. Alle mit SK aktivierten Plasmen zeigen ebenso wie die mit Plasmin aktivierten Plasmen einen typischen Kurvenverlauf:



100 E SK 50 E SK 25 E SK

Diese Kurvenform hängtauf das engste mit der schon bekannten spezifisch fibrinolytischen Wirkung des durch SK aktivierten Plasmins zusammen. Diese spezifisch fibrinolytische Wirkung des Plasmins konnten wir auch an Hand des VFgT bestätigen, bei dem erst durch lange Inkubationszeiten und relativ hohe Mengen an Plasmin das Fibrinogen zerstört wird. Erst im Moment der Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin entfaltet das Plasmin seine ganze proteolytische Aktivität. Deshalb verläuft bei nicht zu großen Plasminmengen die Gerinnung etwa normal, d. h. ohne erhebliche Zerstörung von Fibrinogen. So wird zunächst die ganze Cuvette mit einem wenig veränderten Gerinnsel ausgefüllt, was in dem zunächst steilen Kurvenanstieg zum Ausdruck kommt. Durch die fibrinolytische Wirkung des Plasmin wird nun das Fibrin rasch zerstört. Dies gilt in dieser Schärfe nur für durch SK akti-

viertes Plasmin, das sich ja in ganz bestimmter Menge und gleichmäßiger Verteilung im Eiweißverband des Plasmas befindet. Bei von außen zugeführtem Plasmin haben wir nicht immer diese Verteilung gewährleistet, so daß wir mit einer ungleichmäßigen Andauung des Fibrins rechnen müssen, die im TEG zur Pseudofibrinolyse führen kann (siehe Kapitel Plasmin, Seite 57). Aus diesen Plasmineigenschaften erklärt sich das seltene Vorkommen einer Pseudofibrinolyse im TEG. Darunter verstehen wir das Schmälerwerden der Trombelastogrammkurve nicht auf Grund wirklicher Elastizitätsminderung, sondern einer teilweisen bis völligen Ablösung des Gerinnsels von den Kontaktflächen der Cuvette und des Stiftes ohne daß eine wirkliche Auflösung oder Elastizitätsabnahme erfolgt wäre.

Ganz allgemein sind daher die vorwiegend fibrinolytisch wirkenden Fermente im TEG gut zu erfassen. Sie zeigen sich in der oben ausgeführten charakteristischen Kurvenform. Vorwiegend fibrinogenolytisch wirkende Fermente sind dagegen im TEG schwerer zu erfassen wegen des häufigen Auftretens von Pseudofibrinolyse. Das während der Reaktionszeit r zerstörte Fibrinogen steht nämlich nicht mehr zur Gerinnselbildung zur Verfügung, so daß von vorne herein das Gerinnselvolumen verkleinert ist. Die Ablösung des Gerinnsels tritt daher sehr leicht ein. (Weitere Ausführungen über TEG-Kurven vom fibrinogenolytischen Typ siehe Seite 81).

II. Im V F T :

0,2 Pl + 0,05 SK + 0,05 NaCl + 0,06 $CaCl_2$

		Gerinng.	LT
1. SK 50 E : + 0,05 SK 50 E	1.	161,8"	190,3"
	2.	159,7"	153,1"
2. SK 100 E: + 0,05 SK 100 E	1.	141,0"	53,2"
	2.	140,4"	20,2"
	3.	134,4"	70,4"
	4.	129,3"	55,2"
	5.	90,8"	64,7"
	6.	81,8"	79,9"

Es wurden jeweils verschiedene Plasmen verwendet.

Im VFT sehen wir bei allen mit 100 E SK aktivierten Plasmen, daß die Gerinnung bei 81,8" bis 134,4" und die totale Lysis zwischen 20,2 und 79,9" erfolgt, was wir im TEG nur in einem Fall reproduzieren konnten. Bei 50 E SK stimmen die Werte mit dem TEG grob überein.

III. Im V Fg T :

1. Leerwert:

0,2 Fg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 Th 60 E/ccm La Roche

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,0"	5,1"	5,3"	5,4"	5,0"	5,0"	5,0"

2. SK: 0,05 ccm = 100 E:

+ 0,05 SK 100 E + 0,05 NaCl + 0,1 Th 60 E/ccm

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,0"	5,2"	5,1"	5,1"	5,2"	5,1"	5,0"

3. SK: 0,05 ccm = 500 E:

+ 0,05 SK 500 E + 0,05 NaCl + 0,1 Th 60 E/ccm

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,2"	5,2"	5,0"	5,1"	5,2"	5,2"	5,2"

Im VFgT zeigt sich auch nach hohen Dosen von SK kein Einfluß auf Fibrinogen und Fibrin, d. h.

a) daß in dem verwendeten SK-Präparat keinerlei Verunreinigung mit proteolytischen Fermenten vorliegt. Der VFgT ist daher zur Testung von SK auf seinen Reinheitsgrad bzw. zur Aufdeckung von Verunreinigungen mit Endopeptidasen vom Trypsintyp geeignet.

b) daß der Gerinnungsvorgang durch SK nicht grob gestört wird.

B. Streptokinase-Hemmung durch Leber-Inhibitor:

I. Im T E G : LI (R 1237) 6 000 IE/ccm; 1,1 γ/IE

Vers. Nr		Qu. Jnd	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Jnd
I	1. Leerwert	100	4	1,5	17,5		182	178	150	138	139
	2. SK : 100 E		-	-	-		-	-	-	-	-
	Änderung 1. zu 2. in %		-	-	-		-100	-100	-100	-100	-100
	3. SK 100 E + LJ unv. 300 JE		7,5	3	15		52	4	3	2	50
	Änderung 1. zu 3. in %		+88		-14		-72	-97	-98	-99	-64
II	1. Leerwert	100	2,5	2	20		108	104	85	82	100
	2. SK. 100 E		-	-	-		—	—	—	—	—
	Änderung 1. zu 2. in %		—	—	—		-100	-100	-100	-100	-100
	3. SK 100 E + LJ unv. : 300 JE		5,5	1,5	14		82	32	30	12	74
	Änderung 1. zu 3. in %		+120		-30		-26	-69	-65	-85	-26

Unter Verlängerung von r auf das Doppelte trat bei beiden Versuchen ein steiler Kurvenanstieg auf nach Zugabe von Leber-Inhibitor. Bei Versuch I erfolgte dann nach 15 Minuten schönen Kurvenverlaufes ein jäher Elastizitätsabfall. Es traten unregelmäßige Zacken auf und die Kurvenlinien verbreiterten sich auf 1 mm. Bei Versuch II kommt es bereits beim aufsteigenden Kurvenschenkel zu bizarren Verziehungen unter schnellem Elastizitätsturz der Kurve.

Da die Menge an zugegebenem Leber-Inhibitor jedoch ausreicht die Fibrinolyse mindestens 24 Stunden zu verhindern (siehe VFT) und wir nach Herausnahme der Cuvetten noch reichlich Fibrin vorfanden, haben wir hier eine Pseudofibrinolyse vor uns, die in der TEG-Kurve ganz charakteristische Veränderungen hinterläßt. Wir haben die wichtigsten Kennzeichen der Pseudofibrinolyse im Verlauf der Arbeit systematisch herausgestellt und zum Schluß zusammengefaßt. Zum besseren Verständnis der weiteren Untersuchungen geben wir auch hier den systematischen Überblick.

Kennzeichen der Pseudofibrinolyse sind:

1. Zacken- und Stufenbildung
2. Kurvenlinienverbreiterung auf mehr als 0,5 mm
3. Schlierenbildung in der Kurveninnenfläche.

II. Im V F T :

1. Versuchsreihe: LI (R 950) 1 000 IE/ccm; 20 γ/IE

1. SK 100 E:

	Gerinng.	LT
0,2 Pl + 0,05 SK 100 E + 0,05 NaCl + 0,06 $CaCl_2$	134,4"	70,4"

2. LI 1 000 IE/ccm:

+ 0,05 LI unv.:	50,0 IE	250,0"	ca.24 Std.
+ -"- 1: 5 :	10,0 IE	280,0"	1 Std.
+ -"- 1:10 :	5,0 IE	307,0"	45'
+ -"- 1:20 :	2,5 IE	131,0"	79,0"
+ -"- 1:40 :	1,2 IE	110,5"	69,0"
+ -"- 1:50 :	1,0 IE	102,1"	44,0"

2. Versuchsreihe: LI (R 1237) 6 000 IE/ccm; 1,1 γ/IE

1. SK 100 E:			Gerinng.	LT
0,2 Pl + 0,05 SK 100 E + 0,05 NaCl + 0,06 $CaCl_2$			134,4"	70,4"
2. LI 6 000 IE/ccm:				
+ 0,05 LI unv.	:	300 IE	233,8"	ca.24 Std.
+ -"-	1: 3:	100 IE	124,8"	ca.24 Std.
+ -"-	1: 5:	60 IE	160,0"	ca.24 Std.
+ -"-	1: 10:	30 IE	89,7"	ca.18 Std.
+ -"-	1: 20:	15 IE	87,3"	ca. 8 Std.
+ -"-	1: 50:	6 IE	92,2"	1 Std.
+ -"-	1: 100:	3 IE	101,8"	213,6"
+ -"-	1: 200:	1,5 IE	78,5"	78,5"
+ -"-	1: 400:	0,75IE	85,5"	64,0"

3. Versuchsreihe: LI (R 1237) 6 000 IE/ccm; 1,1 γ/IE

1. SK 100 E:			Gerinng.	LT
0,2 Pl + 0,05 SK 100 E + 0,05 NaCl + 0,06 $CaCl_2$			140,0"	50,0"
2. LI 6 000 IE/ccm:				
+ 0,05 LI	1: 50 :	6,0 IE	137,0"	1 Std.
+ -"-	1:100 :	3,0 IE	169,0"	260,0"
+ -"-	1:200 :	1,5 IE	173,0"	210,0"
+ -"-	1:400 :	0,75IE	152,0"	65,0"

Im VFT konnten wir quantitative Beziehungen finden zwischen Leber-Inhibitor-Einheiten und seiner fibrinolysehemmenden Wir-

kung. Gegenüber mit 100 E SK aktiviertem Plasma fanden wir folgende Lysishemmung:

50	- 60	IE	verzögern die Lysis um	ca. 24 Std.
	30	IE	-"-	ca. 18 Std.
	15	IE	-"-	ca. 8 Std.
5	- 10	IE	-"-	45' -1 Std.
2,5	- 3	IE	-"-	9" - 200"
1,25	- 1,5	IE	-"-	0" - 150"
0,75	- 1,0	IE	-"-	0"

Bei der 1. Versuchsreihe stellte sich bei 1 IE eine Lysiszeitverkürzung um 24" gegenüber dem SK-Wert ein. Die Ursache konnten wir nicht eruieren.

Die verschieden gereinigten Chargen von Leber-Inhibitor erwiesen sich unabhängig von ihrem Reinheitsgrad etwa gleich wirksam.

C. Streptokinase-Hemmung durch Parotis-Inhibitor:

OI (S 1771) 1 000 IE/ccm; 4 γ/IE

I. Im T E G : OI 1 000 IE/ccm

Vers. Nr.		Qu. Ind.	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Ind.
I	1. Leerwert	80	4	2	10		85	43	28	25	96
	2. SK 50 E		3		4	120"	3	-	-	-	17
	Änderung 1. zu 2. in %		-25		-60		-96	-100	-100	-100	-82
	3. SK 50 E + OJ unv. 50 JE		4	2	11		61	43	37	33	83
	Änderung 1. zu 3. in %		0		+10		-28	0	+37	+32	-14
II	1. Leerwert	80	4	2	10		85	43	28	25	96
	2. SK 25 E		3,5		5	150"	5	-	-	-	16
	Änderung 1. zu 2. in %		-13		-50		-94	-100	-100	-100	-83
	3. SK 25 E + OJ (1:5) 10 JE		4		20		27	25	22	19	48
	Änderung 1. zu 3. in %		0		+100		-68	-41	-21	-24	-50
III	4. SK 25 E + OJ (1:20) 2,5 JE		3		4,5	240"	12	-	-	-	46
	Änderung 1. zu 4. in %		-25		-55		-86	-100	-100	-100	-52

Bei Versuch I konnte mit 50 IE Parotis-Inhibitor eine totale Hemmung der Fibrinolyse erreicht werden.

Bei Versuch II und III konnten wir die Abstufungsmöglichkeiten der Fibrinolysehemmung durch 10 IE und 2,5 IE Parotis-Inhibitor darstellen.

Die Kurven zeigen keine Zeichen von Pseudofibrinolyse.

II. Im V F T : OI 1 000 IE/ccm

1) Versuchsreihe:

1. SK 100 E:

	Gerinng.	LT
0,2 Pl + 0,05 SK 100 E + 0,05 NaCl + 0,06 $CaCl_2$	90,8"	64,7"

2. OI 1 000 IE/ccm:

+ 0,05 OI unv. : 50 IE	114,4"	ca.18 Std.
+ -"- 1: 3 : 16,6 IE	81,4"	10'
+ -"- 1: 5 : 10,0 IE	92,7"	163,0"
+ -"- 1:10 : 5,0 IE	81,3"	100,7"
+ -"- 1:20 : 2,5 IE	95,0"	70,0"
+ -"- 1:40 : 1,25IE	78,5"	65,0"

2) Versuchsreihe:

1. SK 100 E:

	Gerinng.	LT
0,2 Pl + 0,05 SK 100 E + 0,05 NaCl + 0,06 $CaCl_2$	140,0"	20,2"

2. OI 1 000 IE/ccm:

+ 0,05 OI unv. : 50 IE	193,0"	ca.24 Std.
+ -"- 1: 5 : 10 IE	172,6"	201,8"
+ -"- 1:10 : 5 IE	168,0"	41,6"
+ -"- 1:20 : 2,5 IE	176,6"	31,0"
+ -"- 1:40 : 1,25IE	150,0"	20,6"

3) Versuchsreihe:

1. SK 100 E:

	Gerinng.	LT
0,2 Pl + 0,05 SK 100 E + 0,05 NaCl + 0,06 $CaCl_2$	134,4"	70,4"

2. OI 1 000 IE/ccm:

+ 0,05 OI unv.	:	50	IE	107,0"	ca.24 Std.
+ -"-	1: 5	:	10	IE	140,7"	146,0"
+ -"-	1:10	:	5	IE	154.0"	92,5"
+ -"-	1:20	:	2,5	IE	137,0"	75,0"

Im VFT erwies sich der Parotis-Inhibitor gegenüber einem mit 100 E Streptokinase aktiviertem Plasma nicht so wirksam, wie der Leber-Inhibitor:

50	IE	verzögern die Lysis um	ca. 24 Std.
10	IE	-"-	80" - 180"
5	IE	-"-	35" - 76"
2,5	IE	-"-	5" - 6"
1,25	IE	-"-	0"

D. Streptokinase-Hemmung durch Sojabohnentrypsin-Inhibitor:

SbI (S 5 297)

I. Im T E G : SbI 165 mg-%: 0,05 ccm = 82,5

Vers. Nr.		Qu. Jnd	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Jnd
I	1. Leerwert	100	3	1,5	23		147	144	122	108	115
	2. SK. 100 E		–	–	–		–	–	–	–	–
	Änderung 1. zu 2. in %		–	–	–		-100	-100	-100	-100	-100
	3. SK 100 E + SbJ (1:2) 41 γ		11	2	27		102	100	92	75	50
	Änderung 1. zu 3. in %		+265		+17		-42	-30	-25	-30	-56
II	1. Leerwert	100	5,5	1,5	25		199	194	163	144	96
	2. SK 100 E		–	–	–		–	–	–	–	–
	Änderung 1. zu 2. in %		–	–	–		-100	-100	-100	-100	-100
	3. SK 100 E + SbJ unv. 82 γ		12	5,5	41		127	100	122	96	37
	Änderung 1. zu 3. in %		+118		+64		-36	-48	-25	-34	-63
III	4. Sk 100 E + SbJ unv. 82 γ		21	8	54		92	30	89	85	35
	Änderung 1. zu 4. in %		+280		+113		-53	-84	-45	-41	-63
IV	1. Leerwert	98	6	14	43		35	25	33	33	34
	2. SK 100 E		–	–	–		–	–	–	–	–
	Änderung 1. zu 2. in %		–	–	–		-100	-100	-100	-100	-100
	3. SK 100 E + SbJ unv. 82 γ		30	30	124		35	—	25	32	6
	Änderung 1. zu 3. in %		+400		+188		0	-100	-24	-3	-82

Die Reaktionszeit r ist bei Sojabohnentrypsin-Inhibitor um das 2 bis 6-fache erhöht.

Die Inhibitor-Kurven der Versuche I, II und IV erreichen nach 60 - 90 Minuten 60 - 95 % der Elastizität des Leerwertes wieder. Da trotz der überaus langen Reaktionszeit keinerlei Zeichen von Pseudofibrinolyse zu finden sind, muß man eine völlige Blockierung des proteolytischen Fermentes annehmen.

II. Im V F T : SbI 165 mg-%: 0,05 ccm = 82,5 γ

1) Versuchsreihe:

1. SK 100 E:

	Gerinng.	LT
0,2 Pl + 0,05 SK 100 E + 0,05 NaCl + 0,06 $CaCl_2$	129,3"	55,2"

2. SbI 165 mg-%:

+ 0,05 SbI	unv. :	82,0 γ	316,8"	ca.8 Std.
+ -"-	1: 10:	8,2 γ	138,6"	1 Std.45'
+ -"-	1: 20:	4,1 γ	123,6"	31'
+ -"-	1: 50:	1,64 γ	125,0"	17,5'
+ -"-	1:100:	0,82 γ	120,0"	70,0"
+ -"-	1:200:	0,41 γ	125,6"	60,0"

Im VFT erweist sich der Sojabohnentrypsin-Inhibitor wiederum sehr wirksam als Proteinasen-Inhibitor. Wir fanden gegenüber einem mit 100 E Streptokinase aktivierten Plasma folgende Werte:

82,0 γ	verzögern die Lysis um	ca. 8 Std.
8,2 γ	-"-	1 Std. 45'
4,1 γ	-"-	31'
1,64 γ	-"-	17,0'
0,82 γ	-"-	15"

Zwischen 0,82 γ und 0,41 γ Sojabohnen-Inhibitor tritt keine Gerinnungszeitverlängerung mehr auf.

E. Streptokinase-Hemmung durch Ei-Inhibitor:

I. Im T E G : EiI 500 mg-%: 0,05 ccm = 250 γ

Vers. Nr.		Qu. Ind.	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Ind.
I	1. Leerwert	98	6	14	43		35	25	33	33	34
	2. SK 100 E		–	–	–		–	–	–	–	–
	3. SK 100 E + EiJ 250 γ		–	–	–		–	–	–	–	–
II	1. Leerwert	100	4	3	15		102	96	89	82	80
	2. SK 100 E		–	–	–		–	–	–	–	–
	3. SK 100 E + EiJ unv. 250 γ		–	–	–		–	–	–	–	–

II. Im V F T :

1) Versuchsreihe: Eiklar-Inhibitor

1. SK 100 E:

	Gerinng.	LT
0,2 Pl + 0,05 SK 100 E + 0,05 NaCl + 0,06 $CaCl_2$	81,8"	79,9"

2. Eiklar-Inhibitor:		Gerinng.	LT
+ 0,05 Eiklar-I	1: 5	94,4"	90,7"
+ -"-	1:10	69,5"	86,3"
+ -"-	1:20	96,0"	85,5"
+ -"-	1:40	94,7"	79,4"

2) Versuchsreihe: EiI 500 mg-%: 0,05 ccm = 250 γ

1. SK 100 E:	Gerinng.	LT
0,2 Pl + 0,05 SK 100 E + 0,05 NaCl + 0,06 $CaCl_2$	81,8"	79,9"

2. EiI 500 mg-%:

+ 0,05 EiI unv.	: 250 γ	78,0"	81,4"
+ -"-	1: 5 : 50 γ	93,7"	80,2"

Wie aus der TEG-Tabelle zu ersehen ist, konnten wir keinen hemmenden Effekt bei Streptokinase-Aktivierung erreichen.

Auch im VFT war durch Eiklar nativ in verschiedenen Verdünnungen und durch EiI 250 γ und 50 γ praktisch keine Hemmung nachweisbar.

3. Kapitel:

Plasmin, seine Eigenwirkung sowie seine Hemmung durch Leber-Inhibitor, Parotis-Inhibitor, Sojabohnentrypsin-Inhibitor und Ei-Inhibitor. Anhang: Proteinasen-Inaktivator im VFgT.

A. P l a s m i n (Fbl), seine Eigenwirkung:

I. Im T E G : Fbl (300 E/mg) 200 mg-%: 0,05 ccm = 30E

Fbl (400 E/mg) 200 mg-%: 0,05 ccm = 40E

Vers. Nr.		Qu. Jnd.	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{60}	Jnd
I	1. Leerwert	90	4	1,5	18		115	113	100	89	110
	2. Fbl (1:2) 15 E		3,5		5,5	5,5'	15	–	–	–	42
	Änderung 1. zu 2. in %		-12		-70		-87	-100	-100	-100	-62
II	3. Fbl unv. 30 E		3,5		4,5	150"	9	–	–	–	50
	Änderung 1. zu 3. in %		-12		-75		-92	-100	-100	-100	-55
III	1. Leerwert	100	3,5	1	17		125	122	92	82	119
	2. Fbl (1:2) 15 E		3		4	120"	11	–	–	–	46
	Änderung 1. zu 2. in %		-14		-76		-91	-100	-100	-100	-61
IV	3. Fbl (1:4) 7,5 E		2		3,5	240"	18	–	–	–	103
	Änderung 1. zu 3. in %		-43		-80		-86	-100	-100	-100	-14
V	1. Leerwert	100	4	2	15		100	92	67	59	106
	2. Fbl unv. 30 E		3		5	51'	25	5	–	–	85
	Änderung 1. zu 2. in %		-25		-67		-75	-95	-100	-100	-20
VI	1. Leerwert	100	3	1	24		67	64	52	45	96
	2. Fbl unv. 30 E		2,5		6	6,5'	3	–	–	–	21
	Änderung 1. zu 2. in %		-17		-75		-95	-100	-100	-100	-78
VII	1. Leerwert	80	4	2	10		85	43	28	25	96
	2. Fbl. unv. 30 E		4		6	300"	22	–	–	–	62
	Änderung 1. zu 2. in %		0		-40		-74	-100	-100	-100	-36
VIII	1. Leerwert	100	4	1	20		153	150	108	85	128
	2. Fbl. unv. 40 E		3	1	6	13'	56	–	–	–	123
	Änderung 1. zu 2. in %		-25		-70		-63	-100	-100	-100	-4

Zusammenfassung der prozentualen Änderung der TEG-Werte sowie LT und r:

Vers. Nr.		r	K_2	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Jnd	r	LT
	Leerwert	100	100	100	100	100	100	100		
VIII	Fibrinolysin 40 E	75	30	37	0	0	0	96	180"	13'
VI	" 30 E	83	25	5	0	0	0	22	150"	6,5'
II	" 30 E	88	25	8	0	0	0	45	210"	150"
V	" 30 E	75	33	25	5	0	0	80	180"	51'
VII	" 30 E	100	60	26	0	0	0	64	240"	300"
III	" 15 E	86	24	9	0	0	0	39	180"	120"
I	" 15 E	88	30	13	0	0	0	38	210"	330"
IV	" 7,5 E	57	20	14	0	0	0	86	120"	240"

Aus der Zusammenfassung ersehen wir deutlich, daß ganz unabhängig von der Menge der Plasmin-Einheiten eine große Schwankung der TEG-Kurven besteht bezüglich ihrer Elastizität, ihrer Reaktionszeit r und der totalen Lysis LT. Bei der Betrachtung der Kurven fällt auf, daß zwar das typische Aussehen fibrinolytischer Kurven vorhanden ist, manche Kurven jedoch Merkmale von Pseudofibrinolyse aufweisen: Bei I leichte Schlierenbildung, V besitzt alle Zeichen der Pseudofibrinolyse, VIII weist Zacken auf. Die Versuche III, IV, II, VII sind dagegen völlig unauffällig, sie gleichen weitgehend einem streptokinase-aktivierten TEG.

Als Gründe für dieses Verhalten des Plasmins im TEG scheint uns das schon Seite 42/43 angedeutete Mischungsproblem zu sein, nicht dagegen ein stärker fibrinogenophiles Verhalten des zugeführten Plasmins, da bei allen Kurven der Kurvenanstieg zunächst steil ist und nicht wie bei einem "fibrinogenolytischen TEG" von Anfang an flach. Es kommt wahrscheinlich bei nur geringfügigen Konzentrationsunterschieden von Plasmin innerhalb des Gerinnsels selbst, zu einem ungleichmäßigen Fibrinabbau, der zur Pseudofibrinolyse führen kann.

Die ungewöhnlich lange Lysis totalis in den Versuchen V, VI und VIII scheint uns ein weiterer Beweis für die oben dargelegte Auffassung zu sein. Im TEG bleibt nämlich das Gerinnsel mit Ausnahme der minimalen Drehbewegungen der Cuvette völlig in Ruhe. Es werden daher die Fibrinmoleküle, die nicht mit der gleichen Konzentration an Plasmin umgeben sind, verschieden schnell abgebaut, so daß möglicherweise einige Fibrinbrücken längere Zeit erhalten bleiben, die eine Lysis totalis verhindern.

II. Im V F T :

1) Versuchsreihe: Fbl (300 E/mg) 100 mg-%: 0,05 ccm = 15E

		Geringg.	LT
0,2 Pl + 0,05 Fbl 15 E + 0,05NaCl + 0,06$CaCl_2$	1.	78,4"	183,5"
	2.	82,0"	185,4"
	3.	96,7"	295,0"
	4.	119,4"	273,0"
	5.	134,0"	160,0"
	6.	159,0"	239,0"

2) Versuchsreihe: Fbl (400 E/mg) 100 mg-%: 0,05 ccm = 20

		Geringg.	LT
0,2 Pl + 0,05 Fbl 20 E + 0,05NaCl + 0,06$CaCl_2$	1.	118,0"	180,0"
	2.	125,8"	250,0"

Im VFgT liegen dagegen die Lysiszeiten gleichmäßig zwischen 160,0" und 295,0", da durch die ständige Bewegung des Metallhäkchens dauernd eine optimale Durchmischung gewährleistet wird.

III. Im V Fg T : Fbl 400 E/mg

1) Versuchsreihe:

1. Leerwert:

0,2 Fg(0,6% + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 NaCl + 0,1 Th 60 E/ccm La Roche

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
4,0"	4,0"	4,1"	4,4"	4,5"	4,5"	4,4"

2. Fbl 200 mg-%: 0,05 ccm = 40 E:

+ 0,05 Fbl 40 E + 0,05 NaCl + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,0"	5,3"	5,3"	5,1"	6,0"	2'	

3. Fbl 1 000 mg-%: 0,05 ccm = 200 E:

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
4,8"	5,0"	5,9"	6,8"	8,6"	2'	

4. Fbl 3 000 mg-%: 0,05 ccm = 600 E:

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,0"	5,6"	5,6"	7,5"	7,0"	2'	

2) Versuchsreihe:

1. Leerwert:

0,2 Fg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 NaCl + 0,1 Th 60 E/ccm La Roche

2'	4'	6'	8'	10'	15'	20'
5,5"	5,5"	5,6"	5,7"	5,7"	5,6"	5,6"

2. Fbl 2 000 mg-%: 0,05 ccm = 400 E:

+ 0,05 Fbl 400E + 0,05 NaCl + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	15'	20'
15,5"	22,7"	34,5"	58,7"	75,0"	89,5"	2'

3) Versuchsreihe:

1. Leerwert:

0,2 Fg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 NaCl + 0,1 Th 60 E/ccm La Roch

2'	4'	6'	8'	10'	15'	20'	30'
5,9"	5,8"	5,8"	5,8"	5,9"	5,8"	5,9"	5,9"

2. Fbl 100 mg-%: 0,05 ccm = 20 E:

+ 0,05 Fbl 20 E + 0,05 NaCl + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	15'	20'
6,1"	6,5"	7,0"	7,2"	8,9"		2'

3. Fbl 100 mg-%: 0,05 ccm = 20 E nach 1 Std. wiederholt:

10'	15'	20'
8,5"	2'	

4. Fbl 100 mg-%: 0,05 ccm = 20 E nach 2 Std. wiederholt:

10'	15'	20'
8,0"	9,0"	10,9"

4) Versuchsreihe:

1. Leerwert:

0,2 Fg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 NaCl + 0,1 Th 60 E/ccm La Roc

2'	4'	6'	8'	10'	15'	20'
5,9"	5,8"	5,8"	5,8"	5,9"	5,8"	5,9"

2. Fbl 5 000 mg-%: 0,05 ccm = 1 000 E:

+ 0,05 Fbl 1000E + 0,05NaCl + 0,1 Th

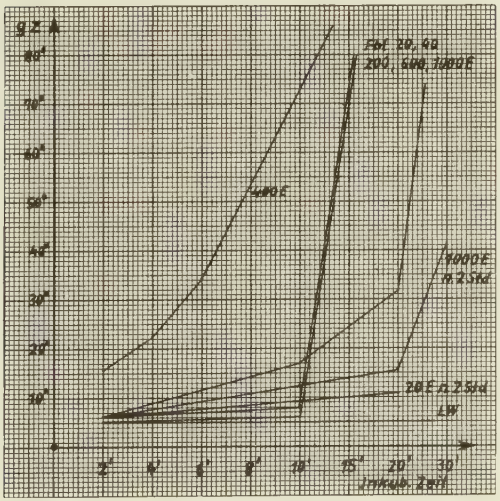
2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
6,8"	10,4"	10,2"	11,0"	11,0"	2'	

3. Fbl 5 000 mg-%: 0,05 ccm = 1 000 E nach 1 Std.wiederholt:

10'	20'	30'
17,5"	31,6"	95,0"

4. Fbl 5 000 mg-%: 0,05 ccm = 1 000 E nach 2 Std.wiederholt:

10'	20'	30'
13,6"	15,5"	41,4"



Graphische Darstellung der Fbl-Aktivität im VFgT

Im VFgT erwies sich Plasmin bis zu 10 Minuten Inkubationszeit weitgehend unwirksam gegenüber Fibrinogen. Nach 10 Minuten können wir einen steilen Anstieg der Gerinnungszeit beobachten unabhängig von der Menge an Plasmin. Er ist für 20, 40, 200, 600 und 1000 E etwa gleich. Dieses Verhalten des Plasmins zeigt seine weitgehende Unspezifität gegenüber Fibrinogen. Außerdem sehen wir, daß das Plasmin nach Auflösung in phys. NaCl ziemlich rasch an Aktivität verliert und zwar umso schneller je kleiner die Menge an zugegebenem Plasmin ist. Dieser Aktivitätsabfall ist eine Hauptschwierigkeit bei der Ausführung des visuellen Fibrinogenolyse-Testes. Es ist daher notwendig bei der Testung von Antifibrinolytica die Aktivität des Plasmins öfter zu prüfen, sofern sich die Gerinnungszeiten nicht der am Anfang des Versuches erhaltenen Plasminkurve nähern entsprechend der Dosisverminderung an Antifibrinolytica.

B. Plasmin-Hemmung durch Leber-Inhibitor:

I. Im T E G : Fbl (300 E/mg) 200 mg-%: 0,05 ccm = 30E
LI (R 950) 1 000 IE/ccm; 20 γ/IE

Vers. Nr.		Qu. Jnd	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Jnd.
I	1. Leerwert	100	4	2	15		102	92	67	59	106
	2. Fbl. unv. 30 E		3		5	300"	25	-	-	-	85
	Änderung 1. zu 2. in %		-25		-67		-75	-100	-100	-100	-20
	3. Fbl. 30 E + LJ unv. 50 JE		9		44		23	19	19	16	14
	Änderung 1. zu 3. in %		+125		+193		-77	-79	-72	-73	-87
II	1. Leerwert	100	3	1	24		67	64	52	45	96
	2. Fbl. unv. 30 E		2,6		6	6,5'	3	-	-	-	21
	Änderung 1. zu 2. in %		-17		-75		-95	-100	-100	-100	-78
	3. Fbl 30 E + LJ unv. 50 JE		11	12	41		47	35	28	22	24
	Änderung 1. zu 3. in %		+270		+70		-30	-45	-46	-51	-75

Versuch I erreichte 23 - 29 % der Elastizität des Leerwertes, Versuch II 49 - 70 %. Analog dieses Ergebnisses ist nicht etwa die Fibrinolyse verschieden stark gehemmt worden. sondern es sind die Zeichen der Pseudofibrinolyse entsprechend dem Ergebnis verschieden ausgeprägt.

Bei I sehen wir ganz unregelmäßige Zackenbildung und Schlierenbildung. Bei II sind kleine Zacken und ganz zarte Schlierenbildung erkennbar. Daß es sich bei beiden Kurven um Pseudofibrinolyse handeln muß, bestätigt auch der VFT.

II. Im V F T : Fbl (300 E/mg) 100 mg-%: 0,05 ccm = 15

1) Versuchsreihe: LI (R 950) 1 000 IE/ccm; 20 γ/IE

1. Fbl 15 E:

	Gerinng.	LT
0,2 Pl + 0,05 Fbl 15 E + 0,05 NaCl + 0,06 $CaCl_2$	119,4"	273,0"

2. LI 1 000 IE/ccm:

+ 0,05 LI unv. :	50,0 IE	110,5"	ca.24 St		
+ -"-	1: 10:	5,0 IE	94,5"	ca. 2 St	
+ -"-	1: 20:	2,5 IE	113,7"	30'	
+ -"-	1: 40:	1,25 IE	102,9"	320,0"	
+ -"-	1: 60:	0,84 IE	118,0"	293,8"	

2) Versuchsreihe: LI (R 1237) 6 000 IE/ccm; 1,1 γ/IE

1. Fbl 15 E:

	Gerinng.	LT
0,2 Pl + 0,05 Fbl 15 E + 0,05 NaCl + 0,06 $CaCl_2$	134,0"	160,0"

2. LI 6 000 IE/ccm:

+ 0,05 LI 1:100:	3,0 IE	160,0"	40'	
+ -"-	1:200:	1,5 IE	65,0"	360,0"
+ -"-	1:400:	0,75 IE	99,0"	212,0"
+ -"-	1:800:	0,37 IE	93,0"	165,0"

Im VFT fanden wir in einem mit 15 E Fibrinolysin versetzten Plasma in 2 Versuchsreihen folgende Hemmwirkung:

50,0 IE	verzögern die Lysis um	ca. 24 Std.	
5,0 IE	-"-	ca. 2 Std.	
3,0 - 2,5 IE	-"-	30'	- 40'
1,25 - 1,5 IE	-"-	50"	- 200"
0,75 - 0,84 IE	-"-	20"	- 52"
0,37 IE	-"-	0"	

III. Im V Fg T : Fbl (400 E/mg) 3000 mg-%: 0,05 ccm =600E
LI (R 1564) 4000 IE/ccm; 5,9 γ/IE

1. Leerwert:

0,2 Fg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 NaCl + 0,1 Th 60 E/ccm La Roche

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
4,0"	4,0"	4,1"	4,4"	4,5"	4,5"	4,4"

2. Fbl 3 000 mg-%: 0,05 ccm = 600 E:

+ 0,05 Fbl 600E + 0,05 NaCl + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
4,8"	5,0"	5,9"	6,8"	8,6"	> 2'	

3. Fbl 600E + LI 4000 IE/ccm in verschiedenen Verdünnungen:

a) LI 2 000 IE/ccm: 0,05 ccm = 100 IE:

+ 0,05 Fbl600E + 0,05 LI100IE + 0,1Th

10'	15'	20'	25'
7,3"	7,5"	7,5"	7,2"

b) LI 500 IE/ccm: 0,05 ccm = 25 IE:

10'	15'	20'
5,0"	5,6"	5,6"

c) LI 125 IE/ccm: 0,05 ccm = 6,25 IE:

10'	15'	20'
5,7"	6,0"	6,0"

d) LI 5 IE/ccm: 0,05 ccm = 0,25 IE:

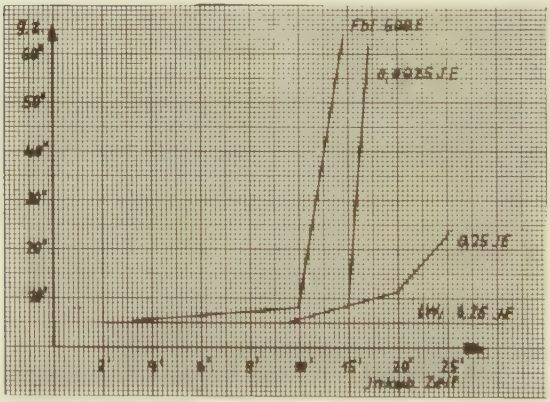
10'	15'	20'	25'
6,2"	9,4"	11,6"	23,5"

e) LI 0,5 IE/ccm: 0,05 ccm = 0,025 IE:

10'	15'	20'	25'
6,5"	9,0"	12,5"	25,4"

f) LI 0,05 IE/ccm: 0,05 ccm = 0,0025 IE:

10'	15'	20'
7,6"	9,0"	> 2'



Graphische Darstellung der Fbl-Hemmung durch LI

Im VFgT zeigt sich, daß 6,25 IE Leber-Inhibitor 600 E Plasmin in Bezug auf die Fibrinogenolyse völlig blockieren. Auch 0,25 IE zeigen noch eine deutliche Hemmung.

C. Plasmin-Hemmung durch Parotis-Inhibitor:

OI (S 1771) 1 000 IE/ccm; 4 γ/IE

I. Im T E G : Fbl (300 E/mg) 200 mg-%: 0,05 ccm = 30E

OI 1 000 IE/ccm

Vers. Nr.		Qu Jnd.	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Jnd
I	1. Leerwert	90	4	1,5	18		115	113	100	89	110
	2. Fbl (1:2) 15 E		3,5	–	5,5	330"	15	–	–	–	42
	Änderung 1. zu 2. in %		-12		-70		-87	-100	-100	-100	-62
	3. Fbl 15 E + OJ unv. 50 JE		3,5	1	14		85	79	59	52	119
	Änderung 1. zu 3. in %		-12		-22		-26	-30	-41	-41	+8
II	4. Fbl 15 E + OJ unv. 50 JE		3,5	1	17		79	75	61	56	106
	Änderung 1. zu 4 in %		-12		-6		-31	-34	-39	-37	-4
III	1. Leerwert	80	4	2	10		85	43	28	25	96
	2. Fbl unv. 30 E		4		6	300"	22	–	–	–	62
	Änderung 1. zu 2. in %		0		-40		-74	-100	-100	-100	-36
	3. Fbl 30 E + OJ (1:5) 10 JE		4	1	6	21'	43	–	–	–	103
	Änderung 1. zu 3. in %		0		-40		-50	-100	-100	-100	+7
IV	4. Fbl 30 E + OJ (1:20) 2,5 JE		4		6	7'	25	–	–	–	72
	Änderung 1. zu 4. in %		0		-40		-70	-100	-100	-100	-25

Versuch I und II zeigen Kurven, in denen 50 IE Parotis-Inhibitor ein mit 15 E Plasmin aktiviertes Plasma seine Elastizität zu 70 % zurückgewann. Wie in allen Versuchen, die mit Parotis-Inhibitor und Streptokinase oder Plasmin ausgeführt wurden, so fanden wir auch bei diesen beiden Kurven keine Zeichen von Pseudofibrinolyse.

Bei den Versuchen III und IV zeigen wir noch einmal die Möglichkeit eine graphische Darstellung der Fibrinolysehemmung mit verschiedenen Einheiten von Inaktivator.

II. Im V F T : Fbl (300 E/mg) 100 mg-%: 0,05 ccm = 15E
OI 1 000 IE/ccm

1) Versuchsreihe:

1. Fbl 15 E:

	Gerinng.	LT
0,2 Pl + 0,05 Fbl 15 E + 0,05 NaCl + 0,06 $CaCl_2$	78,4"	183,5"

2. OI 1 000 IE/ccm:

+ 0,05 OI unv.	: 50,0 IE	132,0"	ca.24 Std.	
+ -"-	1: 5 : 10,0 IE	151,0"	ca. 5 Std.	
+ -"-	1: 10 : 5,0 IE	135,8"	15'	
+ -"-	1: 20 : 2,5 IE	105,5"	5'	
+ -"-	1: 50 : 1,0 IE	74,0"	212,2"	
+ -"-	1:100 : 0,5 IE	200,0"	186,5"	

2) Versuchsreihe:

1. Fbl 15 E:

	Gerinng.	LT
0,2 Pl + 0,05 Fbl 15E + 0,05 NaCl + 0,06 $CaCl_2$	96,7"	295,0"

2. OI 1 000 IE/ccm:

+ 0,05 OI unv.	: 50,0 IE	89,7"	ca.24 Std.	
+ -"-	1: 3: 16,6 IE	87,0"	ca.24 Std.	
+ -"-	1: 5: 10,0 IE	94,0"	ca. 6 Std.	
+ -"-	1: 20: 2,5 IE	92,2"	8'	
+ -"-	1: 40: 1,25 IE	91,2"	410"	
+ -"-	1:100: 0,5 IE	75,7"	350"	
+ -"-	1:200: 0,25 IE	72,0"	325"	
+ -"-	1:600: 0,083IE	75,4"	306"	

Gegenüber mit 15 E Plasmin aktivierten Plasma wirkte der Parotis-Inhibitor folgendermaßen:

50,0	IE	verzögern die Lysis um	ca. 24 Std.
10,0	IE	-"-	ca. 6 Std.
5,0	IE	-"-	15'
2,5	IE	-"-	5' - 8'
1,0 - 1,25	IE	-"-	30" - 115"
0,25 - 0,5	IE	-"-	4" - 55"
0,083	IE	-"-	0"

III. Im V Fg T : Fbl (400 E/mg) 3000 mg-%: 0,05 ccm = 600E
OI 1000 IE/ccm

1. Leerwert:

0,2 Fg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 NaCl + 0,1 Th 60 E/ccm La Roche

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
4,0"	4,0"	4,1"	4,4"	4,5"	4,5"	4,4"

2. Fbl 3000 mg-%: 0,05 ccm = 600 E:

+ 0,05 Fbl600E + 0,05 NaCl + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
4,8"	5,0"	5,9"	6,8"	8,6"	2'	

3. Fbl 600 E + OI 1000 IE/ccm in verschiedenen Verdünnungen:

a) OI 50 IE/ccm: 0,05 ccm = 2,5 IE

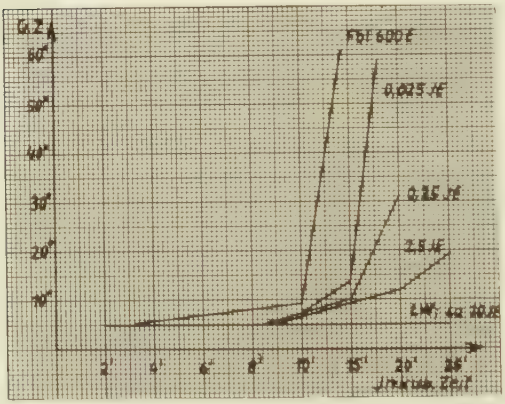
10'	15'	20'	25'
6,0"	9,5"	12,0"	19,6"

b) OI 5 IE/ccm: 0,05 ccm = 0,25 IE:

10'	15'	20'
7,2"	10,0"	31,5"

c) OI 0,5 IE/ccm: 0,05 ccm = 0,025 IE:

10'	15'	20'
6,9"	14,0"	2'



Graphische Darstellung der Fbl-Hemmung durch OI im VFgT

Wie aus der graphischen Darstellung zu ersehen ist, kann man noch bei 2,5 IE und 0,25 IE eine deutliche Hemmung der Fibrinogenolyse beobachten. Diejenige Menge Parotis-Inhibitor, die die Fibrinogenolyse gerade noch völlig verhindert, dürfte analog dem Proteinasen-Inaktivator bei etwa 10 IE liegen.

D. Plasmin-Hemmung durch Sojabohnentrypsin-Inhibitor:

SbI (S 5297)

I. Im T E G :

Fbl (400 E/mg) 100 mg-%: 0,05 ccm = 20 E

SbI 165 mg-%: 0,05 ccm = 82,5 γ

Vers. Nr		Qu. Jnd	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{30}	Jnd.
I	1. Leerwert	100	4	1	20		153	150	108	85	128
	2. Fbl. unv. 20 E		3	1	6		56	-	-	-	123
	Änderung 1. zu 2. in %		-25		-70		-63	-100	-100	-100	-4
	3. Fbl 20 E + SbJ unv. 82 γ		8		14	22'	22	6	-	-	24
	Änderung 1. zu 3. in %		+100		-30		-86	-96	-100	-100	-81
II	4. Fbl 20 E + SbJ 82 γ		11	6	25		45	43	40	40	32
	Änderung 1. zu 4. in %		+175		+25		-70	-71	-63	-53	-75
III	5. Fbl 20 E + SbJ (1:2) 41 γ		7		20		28	23	22	22	29
	Änderung 1. zu 5. in %		+75		0		-82	-85	-80	-75	-77
IV	6. Fbl 20 E + SbJ (1:2) 41 γ		8	4	23		67	64	60	60	41
	Änderung 1. zu 6. in %		+100		+15		-56	-58	-45	-30	-68

Obwohl Sojabohnentrypsin-Inhibitor gegenüber Plasmin sehr gut wirkt, wie im VFT und VFgT gezeigt werden konnte, haben wir selbst bei Überschuß von Sojabohnen-Inhibitor im TEG sehr große Elastizitätschwankungen in den einzelnen Kurven, die wir bei SK aktivierten Plasmen nicht kannten. Sehen wir uns die Kurven auf Pseudofibrinolyse-Merkmale hin an, so finden wir sie in jedem TEG. Am stärksten sind sie in Versuch I ausgeprägt, am schwächsten in Versuch IV. Analog der schwachen Pseudofibrinolyse-Merkmale haben wir bei diesem TEG den größten Elastizitätsgewinn gegenüber dem Plasmin-TEG. Der Grund für dieses Verhalten ist wahrscheinlich der, daß das Plasmin noch bevor es inaktiviert werden kann, einen kleinen Teil des Fibrinogen und Fibrin verändert und abbaut, während beim SK-aktivierten Plasma das Plasmin schon im "status nascendi" inaktiviert wird.

II. Im V F T : Fbl (300 E/mg) 100 mg-%: 0,05 ccm = 15 E
SbI 165 mg-%: 0,05 ccm = 82,5 γ

1) Versuchsreihe:

1. Fbl 15 E :

	Gerinng.	LT
0,2 Pl + 0,05 Fbl 15 E + 0,05 NaCl + 0,06 $CaCl_2$	125,8"	250,0"

2. SbI 165 mg-%:		Gerinng.	LT
+ 0,05 SbI	1: 20 : 4,1 γ	144,0"	35'
+ -"-	1: 50 : 1,64 γ	120,0"	15,5'
+ -"-	1:100 : 0,82 γ	168,0"	330"
+ -"-	1:200 : 0,41 γ	124,0"	300"
+ -"-	1:400 : 0,2 γ	144,3"	300"
+ -"-	1:800 : 0,1 γ	102,0"	260"

Im VFT verursacht der Sojabohnentrypsin-Inhibitor bei einem mit 15 E Plasmin versetzten Plasma folgende Hemmwirkung:

4,1 γ	verzögern die Lysis um	35'
1,64 γ	-"-	11,5'
0,82 γ	-"-	80"
0,2 - 0,41 γ	-"-	50"
0,1 γ	-"-	10"

III. Im V Fg T : Fbl (400 E/mg) 2000 mg-%: 0,05 ccm = 400E
SbI 165 mg-%: 0,05 ccm = 82,5 γ

1. Leerwert:

0,2 Fg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 NaCl + 0,1 Th 60 E/ccm La Roche

2'	4'	6'	8'	10'	15'	20'
5,5"	5,5"	5,6"	5,7"	5,7"	5,6"	5,6"

2. Fbl 2000 mg-%: 0,05 ccm = 400 E:

+ 0,05 Fbl400E + 0,05 NaCl + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	15'	20'
15,5"	22,7"	34,5"	58,7"	75,0"	89,5"	> 2'

3. Fbl 400 E + SbI 165 mg-% in verschiedenen Verdünnungen:

a) SbI 1:250 ; 0,05 ccm = 0,33 γ :

+ 0,05 Fbl400E + 0,05 SbI + 0,1 Th

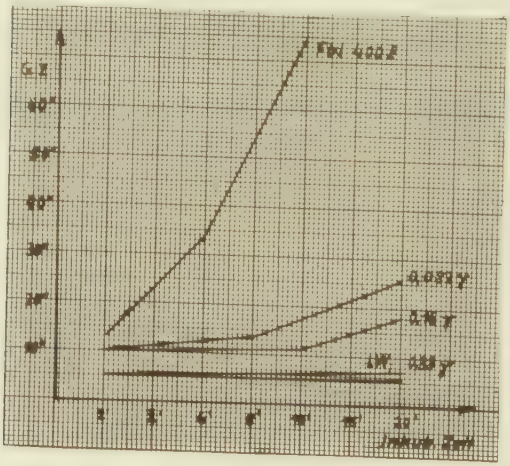
2'	4'	6'	8'	10'	15'	20'
5,5"	5,2"	6,0"	6,1"	7,0"	7,3"	7,1"

b) SbI 1:500 ; 0,05 ccm = 0,16 γ :

2'	4'	6'	8'	10'	15'	20'
10,8"	10,8"	11,0"	10,8"	11,3"	16,0"	17,3"

c) SbI 1:1000; 0,05 ccm = 0,082 γ :

2'	4'	6'	8'	10'	15'	20'
10,0"	10,0"	12,4"	13,4"	16,5"	21,5"	26,0"



raphische Darstellung der Fbl-Hemmung durch SbI im VFgT

Wie wir aus der Kurve sehen, blockieren bis zu 0,33γ SbI die Fibrinogenolyse völlig. Auch 0,16γ SbI hemmen noch deutlich. Diese Plasminkurve steigt steiler an als die übrigen Plasminkurven.

E. Plasmin-Hemmung durch Ei-Inhibitor:

I. Im T E G : Fbl (300 E/mg) 100 mg-%: 0,05 ccm = 15 E
EiI 500 mg-%: 0,05 ccm = 250γ

Vers. Nr.		Qu. Jnd	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Jnd
I	1. Leerwert	100	3,5	1	17		125	122	92	82	119
	2. Fbl. unv. 15 E		3		4	120"	11	-	-	-	46
	Änderung 1. zu 2. in %		-15		-76		-91	-100	-100	-100	-61
	3. Fbl 15 E + Ei J unv. 250γ		1,5		2,5	150"	15	-	-	-	96
	Änderung 1. zu 3. in %		-57		-85		-88	-100	-100	-100	-20
II	4. Fbl 15 E + Ei J 250γ		1		2	210"	15	-	-	-	119
	Änderung 1. zu 4. in %		-71		-88		-88	-	-	-	0

II. Im V F T : Fbl (300 E/mg) 100 mg-%: 0,05 ccm = 15 E

1) Versuchsreihe: Eiklar-Inhibitor

1. Fbl 15 E:

	Gerinng.	LT
0,2 Pl + 0,05 Fbl 15 E + 0,05 NaCl + 0,06 $CaCl_2$	118,0"	180,0"

2. Eiklar-Inhibitor:

+ 0,05 Eiklar-I	1: 5	98,3"	274,0"
+ -"-	1:10	79,8"	183,0"

2) Versuchsreihe: EiI 500 mg-%: 0,05 ccm = 250 γ

1. Fbl 15 E :

	Gerinng.	LT
0,2 Pl + 0,05 Fbl 15 E + 0,05 NaCl + 0,06 $CaCl_2$	118,0"	180,0"

2. EiI 500 mg-%:

+ 0,05 EiI unv. : 250 γ	99,8"	182,0"
+ -"- 1: 5 : 50 γ	87,6"	180,0"

III. Im V Fg T: Fbl (400 E/mg) 2000 mg-%: 0,05 ccm = 400 E

EiI 500 mg-%: 0,05 ccm = 250 γ

1. Leerwert:

0,2 Fg (0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 NaCl + 0,1 Th 60 E/ccm La Roch

2'	4'	6'	8'	10'	15'	20'
5,5"	5,5"	5,6"	5,7"	5,7"	5,6"	5,6"

2. Fbl 2000 mg-%: 0,05 ccm = 400 E:

+ 0,05 Fbl400E + 0,05 NaCl + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	15'	20'
15,5"	22,7"	34,5"	58,7"	75,0"	89,5"	2'

3. Fbl 400 E + EiI 500 mg-% in verschiedenen Verdünnungen:

a) EiI 1:5 ; 0,05 ccm = 50 γ :

+ 0,05 Fbl400E + 0,05 EiI + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	15'	20'
10,0"	12,0"	16,5"	30,3"	43,0"	65,0"	76,3"

b) EiI 1:75; 0,05 ccm = 3,32 γ:

2'	4'	6'	8'	10'	15'	20'
11,2"	13,0"	17,5"	35,5"	60,5"	82,6"	> 2'

Mit unseren Methoden konnten wir keine significante Fibrinolyse- bzw. Fibrinogenolyse-Hemmung durch Ei-I nachweisen, in Bezug auf Plasmin.

F. Anhang: Plasmin-Hemmung durch Proteinasen-Inaktivator im VFgT:

Fbl (400 E/mg) 2000 mg-%: 0,05 ccm = 400 E

ProtI (A 128/ S 2348) 1000 IE/ccm; 8 γ/IE

1. Leerwert:

0,2 Fg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 NaCl + 0,1 Th 60 E/ccm La Roche

2'	4'	6'	8'	10'	15'	20'
5,5"	5,5"	5,6"	5,7"	5,7"	5,6"	5,6"

2. Fbl 2000 mg-%: 0,05 ccm = 400 E:

+ 0,05 Fbl400E + 0,05 NaCl + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	15'	20'
15,5"	22,7"	34,5"	58,7"	75,0"	89,5"	2'

3. Fbl 400E + ProtI 1000 IE/ccm in verschiedenen Verdünnungen:

a) ProtI 200 IE/ccm: 0,05 ccm = 10 IE:

+ 0,05 Fbl400E + 0,05 ProtI + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	15'	20'
9,0"	9,5"	9,5"	10,0"	10,2"	9,6"	9,6"

b) ProtI 100 IE/ccm: 0,05 ccm = 5 IE:

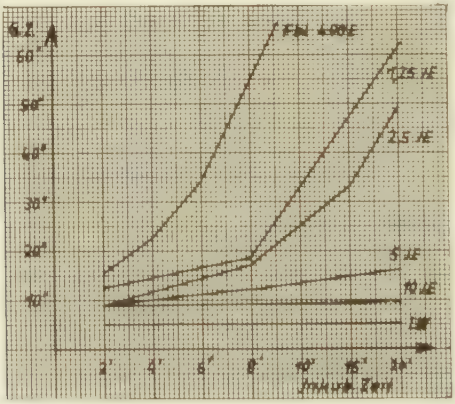
2'	4'	6'	8'	10'	15'	20'
9,5"	10,0"	11,0"	12,0"	12,8"	14,5"	16,0"

c) ProtI 50 IE/ccm: 0,05 ccm = 2,5 IE:

2'	4'	6'	8'	10'	15'	20'
11,0"	11,0"	12,0"	17,5"	26,0"	33,3"	49,0"

d) ProtI 25 IE/ccm: 0,05 ccm = 1,25 IE:

2'	4'	6'	8'	10'	15'	20'
13,0"	14,3"	15,0"	18,0"	27,0"	50,0"	57,0"



Graphische Darstellung der Fbl-Hemmung durch ProtI im VFgT

Bis zu 10 IE Proteinasen-Inaktivator hemmen 400 E Fbl noch etwa vollkommen. Bei 2,5 IE ist kaum noch Hemmung zu erkennen.

4. Kapitel:

Trypsin, seine Eigenwirkung, sowie seine Hemmung durch Leber-Inhibitor, Parotis-Inhibitor, Sojabohnentrypsin-Inhibitor und Ei-Inhibitor.

Anhang: Proteinasen-Inaktivator im VFgT.

A. T r y p s i n (Tr), seine Eigenwirkung:

I. Im T E G : Tr 100 mg-%: 0,05 ccm = 50 γ

Vers. Nr		Qu Jnd.	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Jnd.
I	1. Leerwert	100	3,5	1	18		110	108	92	85	115
	2. Tr. unv. 50 γ		0,5		15		13	13	12	11	32
	Änderung 1. zu 2. in %		-83		-17		-88	-88	-87	-87	-72
II	3. Tr. (1:2) 25 γ		0,5	15	30		41	39	37	37	39
	Änderung 1. zu 3. in %		-83		+67		-63	-64	-60	-56	-66
III	4. Tr. (1:4) 12,5 γ		1	4	35		100	96	89	89	83
	Änderung 1. zu 4. in %		-71		-95		-9	-11	-3	+5	-28
IV	1. Leerwert	100	3	1,5	19		190	186	113	100	119
	2. Tr. unv. 50 γ		0,5		19		25	23	19	18	52
	Änderung 1. zu 2. in %		-83		0		-87	-88	-83	-82	-56
V	1. Leerwert	98	3	3	26		72	72	67	64	67
	2. Tr. unv. 50 γ		0,5		20		4	3	3	3	8
	Änderung 1. zu 2. in %		-83		-22		-94	-95	-95	-95	-88
VI	1. Leerwert	97	4	22	26		27	27	27	25	46
	2. Tr. unv. 50 γ		0,5		25		4	4	4	4	27
	Änderung 1. zu 2. in %		-87		-4		-85	-85	-85	-84	-41
VII	1. Leerwert	100	4	2	22		92	92	85	82	92
	2. Tr. unv. 50 γ		0,5		20		13	13	12	11	21
	Änderung 1. zu 2. in %		-87		-9		-86	-86	-86	-87	-77

Vers. Nr.		Qu. Jnd	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Jnd
VIII	1. Leerwert	100	5	1	25		182	178	144	122	106
	2. Tr. unv. 50 γ		0,5		11		8	5	2	2	24
	Änderung 1. zu 2. in %		-90		-56		-90	-94	-98	-98	-77
IX	3. Tr. (1:2) 25 γ		0,5	2,5	15		54	52	43	41	119
	Änderung 1. zu 3. in %		-90		-40		-70	-71	-70	-67	+12
X	1. Leerwert	100	3,5	2	24		251	245	212	170	139
	2. Tr. unv. 50 γ		0,5		31		12	11	11	10	14
	Änderung 1. zu 2. in %		-86		+29		-95	-95	-95	-94	-90
XI	1. Leerwert	100	3,5	6	33		147	138	133	117	102
	2. Tr unv. 50 γ		0,25	13	24		28	27	25	23	74
	Änderung 1. zu 2. in %		-93		-27		-81	-80	-81	-80	-27
XII	1. Leerwert	100	3	1,5	19		130	125	102	96	166
	2. Tr unv. 50 γ		0,5	4	20		45	43	35	32	158
	Änderung 1. zu 2. in %		-83		+5		-66	-66	-66	-66	-5
XIII	3. Tr unv. 50 γ		0,5	5	12		30	20	16	15	123
	Änderung 1 zu 3 in %		-83		-37		-77	-84	-85	-84	-26
XIV	1. Leerwert	100	5	1,5	23		190	186	156	138	103
	2. Tr unv. 50 γ		0,5	2,5	2,5		25	18	15	13	144
	Änderung 1. zu 2. in %		-90		-98		-87	-90	-91	-91	+40
XV	1. Leerwert	100	3	1	17		170	163	150	133	158
	2. Tr 200 mg-% : 100 γ		0,5		2,5	12'	6	–	–	–	32
	Änderung 1. zu 2. in %		-83		-85		-96	-100	-100	-100	-80

Zusammenfassung der prozentualen Änderung der TEG-Werte sowie LT und r.

Vers. Nr.		r	K_2	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Jnd	r	LT
	Leerwert	100	100	100	100	100	100	100		
XV	Trypsin 100 γ	17	15	4	0	0	0	20	30"	12'
V	" 50 γ	17	78	6	5	5	5	12		
VIII	" 50 γ	10	44	10	6	2	2	23		
X	" 50 γ	14	129	5	5	5	6	10		
I	" 50 γ	17	83	12	12	13	13	28		
IV	" 50 γ	17	100	13	12	17	13	44		
XIV	" 50 γ	10	2	13	10	9	9	140		
VII	" 50 γ	13	91	14	14	14	13	79		
VI	" 50 γ	23	96	15	15	15	16	59		
XIII	" 50 γ	17	63	23	16	15	16	74		
XI	" 50 γ	7	73	19	20	19	20	73		
XII	" 50 γ	17	105	34	34	34	34	95		
IX	" 25 γ	10	60	30	29	30	33	112		
II	" 25 γ	17	167	37	36	40	44	34		
III	" 12,5 γ	29	5	91	89	97	105	72		

Bei Trypsin und Chymo-Trypsin sehen wir im TEG eine prinzipiell andere Kurvenform, wie bei Streptokinase und Plasmin. Die Kurven beginnen flach und bleiben schmal ohne Tendenz zur Totallysis (LT). Diese Kurvenform hängt direkt mit den schon bekan-

ten und von uns erneut bestätigten Eigenschaften des Trypsin und Chymo-Trypsin gegenüber Fibrinogen und Fibrin zusammen. Im VFgT haben wir schon mit 0,37 γ Trypsin und 1,33 γ Chymo-Trypsin solche Fibrinogenolysekurven wie mit 20 E bis 1000 E Plasmin.

Umgekehrt tritt die totale Fibrinolyse mit 50 Trypsin erst etwa nach 16 bis 20 Minuten ungenau ein, während sie mit 15 E Plasmin schon nach 180" - 290" eintritt. Wenn wir also ein TEG mit Trypsin incubiert ansetzen, wird während der Reaktionszeit r ein großer Teil des Fibrinogen verändert und abgebaut, so da wir nach der Gerinnung nur mehr einen Bruchteil des Gerinnselvolumens erhalten. Dieses von vorne herein verkleinerte Gerinnsel kommt im TEG zum Ausdruck durch den flachen Kurvenverlauf. Die schlechte Tendenz zur Totallysis bewirkt dann, daß die Kurven lange Zeit schmal verlaufen. Wenn der Fibrinogenabbau vorwiegend an der Cuvettenwand erfolgt, kommt es zur Pseudofibrinolyse. Bei den Versuchen VIII, X, XIII, und XIV sahen wir deutliche Zeichen davon.

Wir können daher am TEG zwei wichtige Kurventypen unterscheiden, sofern nicht Zeichen der Pseudofibrinolyse das Bild verwischen:

1. Das TEG von fibrinogenolytischem Typ
   (Trypsin, Chymo-Trypsin):

2. Das TEG von fibrinolytischem Typ
(Streptokinase, Plasmin):

Im TEG können wir also in vitro mit e i n e r M e t h o d e fibrinolytische und fibrinogenolytische Vorgänge erfassen, sowie deren Hemmung durch Inhibitoren.

Der große Nachteil dieser Methode besteht aber im Auftreten von Pseudofibrinolyse, die besonders leicht beim TEG vom fibrinogenolytischen Typ auftritt.

II. Im V F T :

1) Versuchsreihe: Tr 100 mg-%: 0,05 ccm = 50 γ

	Gerinng.	LT
0,2 Pl + 0,05 Tr 50 γ + 0,05 NaCl + 0,06 $CaCl_2$	1. 41,5"	ca.18' ungenau
	2. 24,5"	ca.16' ungenau

Im VFT konnten wir den schlechten Fibrinabbau durch Trypsin beobachten. Man kann den Zeitpunkt des völligen Fibrinabbaues nicht sicher erkennen. Daher ist diese Methode zur Testung von Antifibrinolytica an Trypsin wenig brauchbar.

III. Im V Fg T : Tr 100 mg-%: 0,05 ccm = 50 γ

1) Versuchsreihe:

1. Leerwert:

0,2 Fg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 NaCl + 0,1 Th 60 E/ccm La Roche

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,0"	5,0"	5,0"	5,0"	4,9"	5,1"	5,0"

2. Tr 100 mg-% in verschiedenen Verdünnungen:

a) Tr unv.; 0,05 ccm = 50 γ :

+ 0,05 Tr 50 γ + 0,05 NaCl + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
> 2'						

b) Tr 1:125; 0,05 ccm = 0,4 γ :

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
27,7"	> 2'					

c) Tr 1:135; 0,05 ccm = 0,37 γ :

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
8,0"	14,0"	25,0"	40,0"	49,5"	55,6"	65,0"

2) Versuchsreihe:

1. Leerwert:

0,2 Fg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 NaCl + 0,1 Th 60 E/ccm La Roch

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,1"	5,0"	5,0"	5,0"	5,0"	5,2"	5,0"

2. Tr 100 mg-% in verschiedenen Verdünnungen:

a) Tr 1:135 ; 0,05 ccm = 0,37 γ :

+ 0,05 Tr 0,37 γ + 0,05 NaCl + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
> 2'						

b) Tr 1:150 ; 0,05 ccm = 0,33 γ :

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
> 2'						

c) Tr 1:200 ; 0,05 ccm = 0,25 γ :

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
> 2'						

d) Tr 1:250 ; 0,05 ccm = 0,2 γ :

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
10,7"	16,0"	23,0"	25,8"	39,0"	54,0"	60,0"

e) Tr 1:250 ; 0,05 ccm = 0,2 γ nach 2 Std. nochmals gemacht

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
10,0"	10,2"	11,0"	11,0"	11,1"	10,9"	11,0"

f) Tr 1:50 ; 0,05 ccm = 1,0 γ daran anschließend:

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
22,5"	> 2'					

g) Tr 1:200 ; 0,05 ccm = 0,25 γ :

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
12,0"	14,7"	16,0"	16,0"	17,2"	17,2"	18,7"

3) Versuchsreihe:

1. Leerwert:

0,2 Fg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 NaCl + 0,1 Th 60 E/ccm La Roche

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
4,5"	4,8"	4,6"	4,5"	4,5"	4,5"	4,5"

2. Tr 100 mg-% in verschiedenen Verdünnungen:

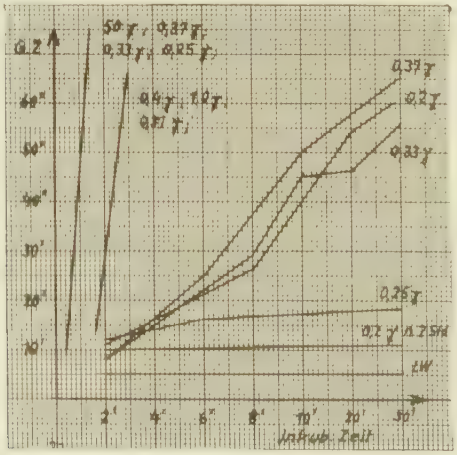
a) Tr 1:135 ; 0,05 ccm = 0,37 γ :

+ 0,05 Tr 0,37γ + 0,05 NaCl + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
20,0"	2'					

b) Tr 1:150 ; 0,05 ccm = 0,33 γ :

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
7,6"	13,8"	26,0"	29,5"	45,0"	46,2"	56,0"



Graphische Darstellung der Trypsin-Aktivität im VFgT

Aus der graphischen Darstellung geht deutlich hervor, daß Trypsin spezifisch für den Abbau von Fibrinogen geeignet ist. Wie die Kurven zeigen, führen schon 0,25 γ Trypsin zu einem raschen Anstieg der Fibrinogenolyse. Daneben fällt eine starke Schwankung der Kurven auf bei gleicher Trypsinkonzentration. Dies zeigt, daß sich die Trypsinaktivität in Lösungen mindern kann. Daher soll man am Schluß jedes visuellen Fibrinogenolyse-Testes die Trypsinkurve wiederholen, sofern sich die Gerinnungszeiten nicht der am Anfang des Versuches erhaltenen Trypsinkurve nähern entsprechend der Dosisverminderung an Antifibrinolytica. Bei Chymo-Trypsin konnten wir diese Instabilität nicht beobachten.

B. Trypsin-Hemmung durch Leber-Inhibitor:

I. Im T E G :

Tr 200 mg-%: 0,05 ccm = 100 γ
LI (R 950) 1000 IE/ccm ; 20 γ/IE
LI (R 1548) 1000 IE/ccm ; 0,4 γ/IE

Vers. Nr.		Qu. Jnd	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}
I	1. Leerwert	100	3	1	17		170	163	150	133
	2. Tr. unv. 100 γ		0,5		2,5	12'	6	-	-	-
	Änderung 1. zu 2. in %		-83		-85		-96	-100	-100	-100
	3. Tr. 100 γ + LJ (R950) 50 JE		-0,5		3		5	2	2	2
	Änderung 1 zu 3. in %		-83		-82		-97	-99	-99	-99
II	1. Leerwert	100	3,5	2	24		251	245	212	170
	2. Tr (1:2) 50 γ		0,5		31		12	11	11	10
	Änderung 1. zu 2. in %		-86		+29		-95	-95	-95	-94
	3. Tr. 50 γ + LJ (R1548) 50 JE		0,25		18		18	11	5	3
	Änderung 1. zu 3 in %		-93		-25		-93	-96	-96	-98
III	4. Tr. 50 γ + LJ (R1548) 50 JE		0,25		6		8	7	6	5
	Änderung 1 zu 4 in %		-93		-75		-97	-97	-97	-97
IV	5. Tr. 50 γ + LJ (R1548) 50 E		0,25		11		9	5	4	3
	Änderung 1. zu 5. in %		-93		-54		-96	-98	-98	-99
V	1. Leerwert	100	3	1,5	19		130	125	102	96
	2. Tr. (1:2) 50 γ		0,5	4	20		45	43	35	32
	Änderung 1. zu 2. in %		-83		+5		-66	-66	-66	-66
	3. Tr. 50 γ + LJ (R1548) 50 E		0,5		4		25	16	15	13
	Änderung 1. zu 3. in %		-83		-79		-81	-87	-85	-86
VI	1. Leerwert	100	3	1,5	19		130	125	102	96
	2. Tr (1:2) 50 γ		0,5	5	12		30	20	16	15
	Änderung 1. zu 2. in %		-83		-37		-77	-84	-85	-84
	3. Tr 50 γ + LJ (R1548) 50 E		0,5		11		19	10	8	8
	Änderung 1. zu 3. in %		-83		-42		-85	-92	-92	-92

Bei keinem der sechs Versuche sahen wir eine Beeinflussung der Elastizität im Sinne einer Steigerung. Im Gegenteil verzeichnen wir bei den Versuchen II, III, IV, V und VI noch ein Absinken der Elastizitätswerte unter die dazugehörigen Trypsinkurven. Wir müßten also anstatt einer Hemmung der Fibrinolyse durch Leber-Inhibitor, noch eine Förderung der Lysis annehmen. Aus dem VFgT können wir aber deutlich ersehen, daß der Leber-Inhibitor gegenüber Trypsin sehr gut wirkt. Außerdem beobachteten wir nach den Versuchen, wie das Gerinnsel zum Teil noch an dem Stift haftete.

Die Gründe für die Pseudofibrinolyse sind hier verschieden:

1. Der Leber-Inhibitor neigt an sich schon zum Verursachen von Pseudofibrinolyse, d.h. zur Minderung der "Thrombusadhäsivität" (R. MARX).
2. Es ist anzunehmen, daß 50 γ Trypsin noch bevor sie vom Leber-Inhibitor inaktiviert werden können eine verändernde Wirkung auf das Fibrinogen ausüben.

II. Im V Fg T : Tr 100 mg-%: 0,05 ccm = 50 γ
LI (R 1564) 4000 IE/ccm ; 5,9 γ/IE

1. Leerwert:

0,2 Fg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 NaCl + 0,1 Th 60 E/ccm La Ro

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,0"	5,0"	5,0"	5,0"	4,9"	5,1"	5,0"

2. Tr 1:135 ; 0,05 ccm = 0,37 γ :

+ 0,05 Tr0,37 γ + 0,05 NaCl + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
8,0"	14,0"	25,0"	40,0"	49,5"	55,6"	65,0"

3. Tr 0,37 γ + LI 4000 IE/ccm in verschiedenen Verdünnungen:

a) LI 4000 IE/ccm: 0,05 ccm = 200 IE:

+ 0,05 Tr0,37 γ + 0,05 LI(200IE) +0,1T

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,2"	5,5"	5,6"	5,5"	5,6"	5,5"	5,6"

b) LI 125 IE/ccm : 0,05 ccm = 6,25 IE:

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
6,0"	5,8"	5,5"	5,7"	5,9"	5,7"	5,5"

c) LI 50 IE/ccm : 0,05 ccm = 2,5 IE:

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
6,3"	7,0"	7,3"	6,6"	6,9"	6,6"	6,3"

d) LI 10 IE/ccm : 0,05 ccm = 0,5 IE:

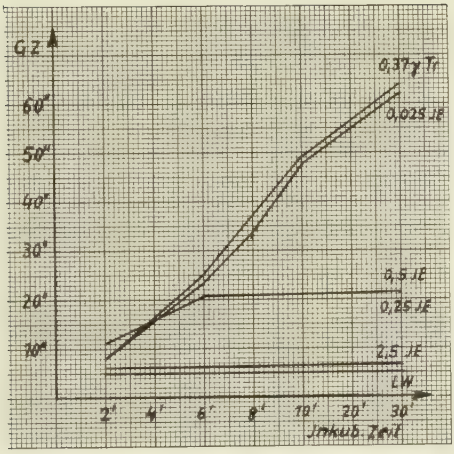
2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
10,0"	17,0"	20,5"	20,9"	21,0"	21,5"	21,5"

e) LI 5 IE/ccm : 0,05 ccm = 0,25 IE:

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
10,4"	18,5"	20,0"	21,5"	21,8"	21,5"	21,5"

f) LI 0,5 IE/ccm : 0,05 ccm = 0,025 IE:

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
9,0"	14,8"	23,0"	33,6"	48,0"	54,0"	64,6"



Graphische Darstellung der Trypsin-Hemmung durch LI im VFgT

Die Fibrinogenolyse wurde bei der Inkubation von 0,37 γ Trypsin von 2,5 IE Leber-Inhibitor noch völlig verhindert. Auch bei 0,5 IE Leber-Inhibitor zeigt sich noch ein deutlicher Teilschutz gegenüber Fibrinogen. 0,025 IE üben keine Wirkung mehr aus.

C. Trypsin-Hemmung durch Parotis-Inhibitor:

OI (S 1771) 1000 IE/ccm ; 4 γ/IE

I. Im T E G : Tr 100 mg-%: 0,05 ccm = 50 γ

OI 1000 IE/ccm

Vers. Nr.		Qu. Ind	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Ind
I	1. Leerwert	100	3,5	2	24		251	245	212	170	139
	2. Tr. unv. 50 γ		0,5		31		12	11	11	10	14
	Änderung 1. zu 2. in %		-86		+29		-95	-95	-95	-94	-90
	3. Tr. 50 γ + OJ unv. 50 JE		0,25		2		6	-	—	—	58
	Änderung 1. zu 3. in %		-93		-92		-98	-100	-100	-100	-58
II	4. Tr. 50 γ + OJ 50 JE		0,25		6		12	8	8	7	80
	Änderung 1. zu 4. in %		-93		-75		-95	-97	-96	-96	-43
III	5. Tr. 50 γ + OJ 50 JE		0,25		10		11	9	8	8	46
	Änderung 1. zu 5. in %		-93		-58		-95	-96	-96	-95	-67

Wie aus der Tabelle hervorgeht, können wir bei keinem der drei Versuche eine Elastizitätssteigerung feststellen. Die antifibrinogenolytische Wirkung des Parotis-Inhibitor geht aber deutlich hervor aus den Ergebnissen des VFgT. Außerdem ist bei jeder Kurve mit Parotis-Inhibitor der Kurvenanstieg bedeutend steiler als bei den dazugehörigen Trypsinkurven (vergl. die Indices), d.h. sie besitzen fibrinolytische Form. Es wurde also mehr Fibrinogen in Fibrin umgewandelt als bei den Trypsinkurven. Trotzdem kommt es bei allen Kurven wieder zum Elastizitätabfall unter Bildung stark pseudofibrinolytischer Merkmale.

Die Ursache der Pseudofibrinolyse dürfte hier wiederum die rasche und stark fibrinogenolytische Wirkung des Trypsins sein, sowie eine gewisse antiadhäsive Wirkung des Parotis-Inhibitor, die nach unseren Beobachtungen allen in dieser Arbeit verwendeten Inhibitoren mehr oder weniger zukommt. Besonders stark ist sie, wie schon erwähnt, beim Leber-Inhibitor ausgeprägt.

II. Im V Fg T : Tr 100 mg-%: 0,05 ccm = 50 γ
OI 1000 IE/ccm

1. Leerwert:

0,2 Fg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 NaCl + 0,1 Th 60 E/ccm La Roche

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,0"	5,0"	5,0"	5,0"	4,9"	5,1"	5,0"

2. Tr 1:135 ; 0,05 ccm = 0,37 γ :

+ 0,05 Tr0,37γ + 0,05 NaCl + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
8,0"	14,0"	25,0"	40,0"	49,5"	55,6"	65,0"

3. Tr 0,37 γ + OI 1000 IE/ccm in verschiedenen Verdünnungen:

a) OI 1000 IE/ccm : 0,05 ccm = 50 IE:

+ 0,05 Tr0,37γ + 0,05 OI(50IE) +0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,5"	5,3"	5,5"	5,6"	5,3"	5,6"	5,5"

b) OI 50 IE/ccm : 0,05 ccm = 2,5 IE:

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
8,0"	7,9"	8,0"	7,8"	8,0"	8,0"	8,0"

c) OI 10 IE/ccm : 0,05 ccm = 0,5 IE:

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
7,6"	10,6"	11,7"	12,8"	15,0"	15,5"	15,6"

d) OI 1 IE/ccm : 0,05 ccm = 0,05 IE:

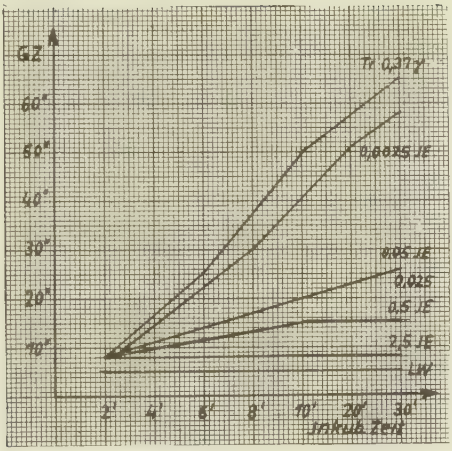
2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
7,5"	11,8"	14,4"	17,5"	19,5"	22,6"	26,5"

e) OI 0,5 IE/ccm : 0,05 ccm = 0,025 IE:

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
10,5"	11,0"	14,5"	17,6"	21,0"	23,5"	28,0"

f) OI 0,05 IE/ccm : 0,05 ccm = 0,0025 IE:

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
9,0"	10,0"	21,5"	30,0"	42,5"	51,0"	58,2"



Graphische Darstellung der Trypsin-Hemmung durch OI im VFgT

Auch mit dem Parotis-Inhibitor konnten wir mit 2,5 IE die Fibrinogenolyse fast völlig verhindern. Im Gegensatz zum Leber-Inhibitor sahen wir noch bei 0,025 IE eine deutliche Hemmung der Fibrinogenolyse. Bei 0,0025 IE ist keine Hemmung mehr festzustellen.

D. Trypsin-Hemmung durch Sojabohnentrypsin-Inhibitor:

SbI (S 5297)

I Im T E G : Tr 100 mg-%: 0,05 ccm = 50 γ
SbI 165 mg-%: 0,05 ccm = 82,5 γ

Vers. Nr		Qu. Jnd	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Jnd.
	1. Leerwert	100	3	1,5	19		127	122	113	100	119
	2. Tr. unv. 50 γ		0,5		19		25	23	19	18	52
	Änderung 1. zu 2. in %		-83		0		-87	-88	-83	-82	-56
	3. Tr. 50 γ + SbJ unv. 82 γ		2	1,5	15		72	72	64	59	123
	Änderung 1. zu 3. in %		-33		-21		-43	-41	-43	-41	+3

Mit 82,5 γ Sojabohnentrypsin-Inhibitor haben wir einen Anstieg der Elastizität gegenüber der mit 50 γ Trypsin angefertigten Kurve um das Doppelte erzielt. Die Kurven zeigen keine Zeichen von Pseudofibrinolyse, da hier durch den Überschuß von Sojabohnentrypsin-Inhibitor eine völlige Blockierung des Trypsins erreicht wurde. Trypsin verhindert die durch Sojabohnentrypsin-Inhibitor bedingte Verlängerung der Reaktionszeit r.

II. Im V Fg T : Tr 100 mg-%: 0,05 ccm = 50 γ
SbI 165 mg-%: 0,05 ccm = 82,5 γ

1. Leerwert:

0,2 Fg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 NaCl + 0,1 Th 60 E/ccm La Roche

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
4,5"	4,8"	4,6"	4,5"	4,5"	4,5"	4,5"

2. Tr 1:150 ; 0,05 ccm = 0,33 γ :

+ 0,05 Tr0,33 γ + 0,05 NaCl + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
7,6"	13,8"	26,0"	29,5"	45,0"	46,2"	56,0"

3. Tr 0,33 γ + SbI 165 mg-% in verschiedenen Verdünnungen:

a) SbI unv. ; 0,05 ccm = 82,5 γ :

+ 0,05 Tr0,33 γ + 0,05 SbI + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
4,8"	5,0"	5,0"	5,0"	5,1"	5,2"	5,2"

b) SbI 1:400 ; 0,05 ccm = 0,2 γ :

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,3"	5,5"	5,4"	5,4"	5,5"	5,4"	5,3"

c) SbI 1:1000; 0,05 ccm = 0,082 γ :

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,2"	5,6"	5,5"	5,5"	5,6"	5,5"	5,4"

d) SbI 1:2000; 0,05 ccm = 0,041 γ :

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,0"	5,7"	6,4"	7,4"	7,4"	7,5"	7,5"

e) SbI 1:3000; 0,05 ccm = 0,027 γ :

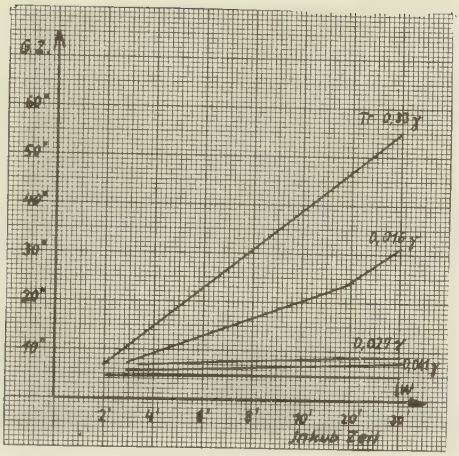
2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
7,0"	7,2"	7,6"	7,8"	8,0"	8,3"	8,7"

f) SbI 1:5000; 0,05 ccm = 0,0167 γ :

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
7,5"	9,0"	13,4"	[illegible]	21,3"	[illegible]	32,4"

g) SbI 1: 10 000; 0,05 ccm = 0,0082 γ :

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
7,9"	14,6"	24,3"	40,0"	44,1"	49,8"	57,3"



Graphische Darstellung der Trypsin-Hemmung durch SbI im VFgT

Im visuellen Fibrinogenolyse-Test wurde durch 0,082 γ Sojabohnentrypsin-Inhibitor noch eine totale Hemmung der Fibrinogenolyse erreicht gegenüber 0,33 γ Trypsin. Auch 0,041 γ und 0,027 γ Sojabohnentrypsin-Inhibitor lassen eine beinahe noch vollkommene Fibrinogenolysehemmung erkennen.

Bei 0,0167 γ und 0,0082 γ hört die antifibrinolytische Wirkung auf.

E. Trypsin-Hemmung durch Ei-Inhibitor:

I. Im T E G : Tr 100 mg-%: 0,05 ccm = 50 γ
EiI 500 mg-%: 0,05 ccm = 250 γ
Eiklar-Inhibitor

Vers. Nr.		Qu. Jnd	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Jnd.
I	1. Leerwert	98	3	3	26		72	72	67	64	67
	2. Tr. unv. 50 γ		0,5		20		4	3	3	3	8
	Änderung 1. zu 2. in %		-83		-22		-94	-95	-95	-95	-88
	3. Tr. 50 γ + Ei J 250 γ		1	5,5	25		49	47	43	43	103
	Änderung 1. zu 3. in %		-67		-4		-32	-35	-36	-33	+54
I	1. Leerwert	97	4	22	26		27	27	27	25	46
	2. Tr. 50 γ		0,5		25		4	4	4	4	27
	Änderung 1. zu 2. in %		-87		-4		-85	-85	-85	-84	-41
	3. Tr. 50 γ + Ei J 250 γ		1		34		22	20	20	20	72
	Änderung 1 zu 3. in %		-75		+30		-19	-26	-26	-20	+56
III	1. Leerwert	100	4	2	22		92	92	85	82	92
	2. Tr. 50 γ		0,5		20		13	13	12	11	21
	Änderung 1. zu 2. in %		-87		-9		-86	-86	-86	-87	-77
	3. Tr. 50 γ + Ei J 250 γ		1,5	0,5	7		56	28	25	23	144
	Änderung 1 zu 3. in %		-62	-75	-68		-39	-70	-70	-72	+56
IV	1. Leerwert	100	5	1,5	23		190	186	156	138	103
	2. Tr. 50 γ		0,5	2,5	2,5		25	18	15	13	144
	Änderung 1. zu 2. in %		-90		-98		-87	-90	-91	-91	+40
	3. Tr. 50 γ + Eiklar Jnh. unv.		5	1	22		212	203	163	150	133
	Änderung 1. zu 3. in %		0		-4		+12	+10	+4	+8	+29
V	1. Leerwert	100	5	1	25		182	178	144	122	106
	2. Tr (1:2) 25 γ		0,5	2,5	15		54	52	43	41	119
	Änderung 1. zu 2. in %		-90	+150	-40		-70	-71	-70	-67	+12
	3. Tr. 25 γ + Eiklar Jnh. unv.		2	1	21		117	92	75	69	142
	Änderung 1. zu 3. in %		-60		-16		-36	-49	-48	-44	+34
VI	4. Tr. 25 γ + Ei J 250 γ		2	1	25		110	108	92	79	150
	Änderung 1. zu 4. in %		-60		0		-40	-39	-36	-36	+41

Vers. Nr.		Qu. Jnd	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Jnd.
VII	1. Leerwert	100	5	1	25		182	178	144	122	106
	2. Tr. 50 γ		0,5		11		8	5	2	2	24
	Änderung 1. zu 2. in %		-90		-56		-90	-94	-98	-98	-77
	3. Tr. 50 γ + Ei klar J unv.		0,5		10		22	18	15	13	100
	Änderung 1. zu 3. in %		-87		-60		-88	-90	-89	-89	-6
VIII	4. Tr. 50 γ + Ei klar J unv.		0,5		12		9	7	5	2	20
	Änderung 1. zu 4. in %		-90		-52		-95	-96	-96	-98	-94
IX	5. Tr. 50 γ + Ei J 250 γ		1	1	4,5		35	18	15	13	158
	Änderung 1. zu 5. in %		-80		-82		-80	-90	-90	-89	+49
X	6. Tr. 50 γ + Ei J 250 γ		0,5	1	2		28	20	19	19	174
	Änderung 1. zu 6. in %		-90		-92		-85	-89	-87	-84	+64

Bei Versuch I, II und III können wir ein Ansteigen der Elastizität um das drei-bis vier-fache der dazugehörigen Trypsin-Kurven feststellen, wobei lediglich Versuch III ganz geringe Zeichen von Pseudofibrinolyse zeigt. Bei Versuch IV und V wurde nativer Eiklar-Inhibitor verwendet: IV zeigt eine Steigerung der Elastizität über den Leerwert hinaus, während bei V die Elastizität gegenüber der Trypsinkurve nur verdoppelt wird, ohne daß jedoch Zeichen von Pseudofibrinolyse vorhanden wären.

Die Trypsinkurve zu den Versuchen VII, VIII, IX und X sowie diese selbst zeigen ausgeprägte Zeichen der Pseudofibrinolyse und keinen wesentlichen Elastizitätsanstieg gegenüber der Trypsinkurve. Lediglich an den relativ hohen Indices, d.h. dem an-

fänglich steilen Anstieg der Kurven, kann man erkennen, daß die Kurven durch den Ei-Inhibitor bzw. Eiklar-Inhibitor vom fibrinogenolytischen Typ in den fibrinolytischen Typ umgewandelt wurden.

Wir sehen also, daß sowohl der native Eiklar-Inhibitor als auch der Ei-Inhibitor hemmend auf das Trypsin einwirken. Ihre relativ gute Wiedergabe im TEG liegt wahrscheinlich an der ziemlich hoch gegriffenen Inhibitormenge von 250 γ.

II. Im V F T : Tr 100 mg-%: 0,05 ccm = 50γ

1) Versuchsreihe: Eiklar-Inhibitor

1. Tr 50 γ :	Gerinng.	LT
0,2 Pl + 0,05 Tr 50 γ + 0,05 NaCl + 0,06 $CaCl_2$	24,5"	16' ungenau
2. Eiklar-Inhibitor:		
+ 0,05 Eiklar-I 1: 5	43,0"	ca. 40'
+ -"- 1:10	23,5"	ca. 37'
+ -"- 1:20	20,5"	ca. 25'

2) Versuchsreihe: EiI 500 mg-%: 0,05 ccm = 250γ

1. Tr 50 γ :	Gerinng.	LT
0,2 Pl + 0,05 Tr 50 γ + 0,05 NaCl + 0,06 $CaCl_2$	24,5"	16' ungenau
2. EiI 500 mg-%:		
+ 0,05 EiI unv. : 250 γ	26,5"	ca. 30'
+ -"- 1: 5 : 50 γ	20,5"	ca. 25'

Da sich die antifibrinolytische Eigenschaft des Ei-Inhibitors an Plasmin nicht nachweisen ließ, testeten wir ihn im visuellen Fibrinolyse-Test an Trypsin, trotz der ungenauen Erkennbarkeit der Totallysis, um einen groben Einblick in seine antifibrinolytische bzw. antitryptische Wirkung zu erhalten.

Wir sehen dabei, daß sowohl der native Eiklar-Inhibitor als auch der gefällte Ei-Inhibitor eine deutliche Lysisverzögerung hervorrufen. Sie ist bei 250 γ sowie 50 γ Ei-Inhibitor und bei nativem Eiklar-Inhibitor (1:5) bzw. (1:10) etwa verdoppelt.

III. Im V Fg T : Tr 100 mg-%: 0,05 ccm = 50 γ
EiI 500 mg-%: 0,05 ccm = 250 γ

1. Leerwert:

0,2 Fg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 NaCl + 0,1 Th 60 E/ccm La Roch

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
4,5"	4,8"	4,6"	4,5"	4,5"	4,5"	4,5"

2. Tr 1:150 ; 0,05 ccm = 0,33 γ :

+ 0,05 Tr 0,33 γ + 0,05 NaCl + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
7,6"	13,8"	26,0"	29,5"	45,0"	46,2"	56,0"

3. Tr 0,33 γ + EiI 500 mg-% in verschiedenen Verdünnungen:

a) EiI unv. ; 0,05 ccm = 250 γ :

+ 0,05 Tr 0,33 γ + 0,05 EiI + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,0"	5,0"	5,0"	5,2"	5,2"	5,0"	5,2"

b) EiI 1:200 ; 0,05 ccm = 1,25 γ :

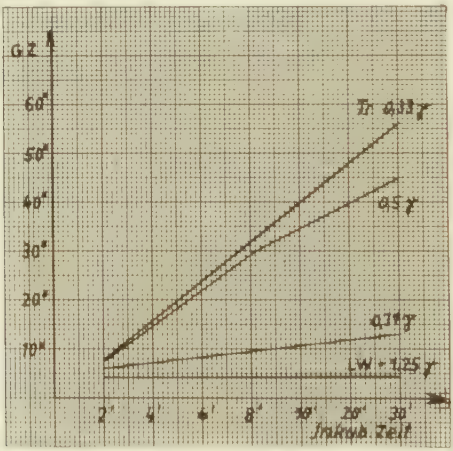
2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,2"	5,1"	5,1"	5,3"	5,0"	5,2"	5,2"

c) EiI 1:350 ; 0,05 ccm = 0,71 γ :

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
6,2"	8,5"	9,5"	10,2"	10,7"	11,5"	13,0"

d) EiI 1:500 ; 0,05 ccm = 0,5 γ :

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
9,3"	15,0"	22,6"	29,5"	30,0"	38,3"	45,4"



Graphische Darstellung der Trypsin-Hemmung durch EiI im VFgT

Gegenüber 0,33 γ Trypsin erreichen wir noch mit 1,25 γ Ei-Inhibitor eine völlige Hemmung der Fibrinogenolyse. Auch bei 0,71 γ Ei-Inhibitor ist noch eine deutliche Hemmung sichtbar. Vom acetongefällten Eiweiß geht also das hemmende Prinzip bereits in ziemlich reiner Form in Lösung.

F. Anhang: Trypsin-Hemmung durch Proteinasen-Inaktivator im VFgT:

Tr 100 mg-%: 0,05 ccm = 50 γ

ProtI (A 128/ S 2348) 1000 IE/ccm; 8 γ/IE

1. Leerwert:

0,2 Fg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 NaCl + 0,1 Th 60 E/ccm La Roche

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,1"	5,0"	5,0"	5,0"	5,0"	5,2"	5,0"

2. Tr 1:200 ; 0,05 ccm = 0,25 γ :

+ 0,05 Tr 0,25 γ + 0,05 NaCl + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
12,0"	14,7"	16,0"	16,0"	17,2"	17,2"	18,7"

3. Tr 0,25 γ + ProtI 1000 IE/ccm in verschiedenen Verdünnungen:

a) ProtI 5 IE/ccm: 0,05 ccm = 0,25 IE:

+ 0,05 Tr 0,25 γ + 0,05 ProtI + 0,1 Th

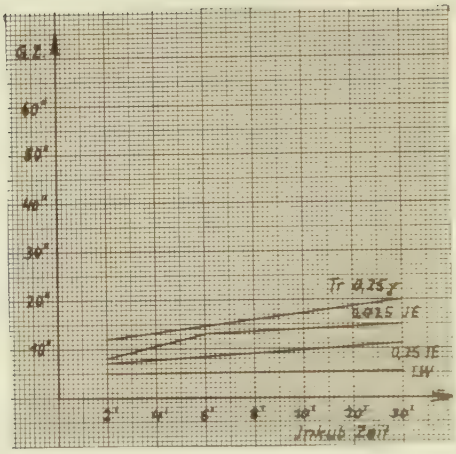
2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
7,0"	8,0"	9,7"	9,8"	10,0"	11,0"	11,0"

b) ProtI 0,5 IE/ccm: 0,05 ccm = 0,025 IE:

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
8,5"	8,8"	13,2"	13,5"	13,2"	13,0"	13,3"

c) ProtI 0,05 IE/ccm: 0,05 ccm = 0,0025 IE:

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
9,0"	9,5"	14,0"	15,0"	15,8"	16,0"	16,3"



Graphische Darstellung der Trypsin-Hemmung durch ProtI im VFgT

Ein mit 0,25 γ Trypsin inkubiertes Fibrinogen wird zum größten Teil noch von 0,25 IE Proteinasen-Inaktivator vor der Fibrinogenolyse geschützt. Die total hemmende Menge dürfte daher analog dem Leber-Inhibitor und Parotis-Inhibitor bei 2,5 IE Proteinasen-Inaktivator liegen. 0,025 IE Proteinasen-Inaktivator zeigen in obiger Darstellung ebenfalls noch eine deutliche Hemmung.

5. Kapitel:

Chymo-Trypsin, seine Eigenwirkung sowie seine Hemmung durch Leber-Inhibitor, Parotis-Inhibitor, Sojabohnentrypsin-Inhibitor und Ei-Inhibitor.

Anhang: Proteinasen-Inaktivator im VFgT.

A. Chymo-Trypsin (ChTr), seine Eigenwirkung:

I. Im TEG: ChTr 200 mg-%: 0,05 ccm = 100 γ

Vers. Nr		Qu. Jnd	r	K_1	K_2	LT	m_ε	β^{30}	β^{60}	β^{90}	Jnd
I	1. Leerwert	100	3	1	18		233	222	163	133	180
	2. Ch.Tr (1:4) 25 γ		2	1	7		72	43	33	25	180
	Änderung 1.zu2. in %		-33		-61		-69	-81	-80	-81	0
II	3. ChTr (1:4) 25 γ		2	2	13		52	43	30	30	106
	Änderung 1.zu2. in %		-33		-28		-78	-80	-82	-78	-41
III	1. Leerwert	90	3	14,5	31		37	35	33	28	39
	2. ChTr unv. 100 γ		7		25		3	3	3	3	3
	Änderung 1.zu 2. in %		-57		-20		-92	-91	-91	-89	-92
IV	1. Leerwert	95	8	4	33		82	79	69	39	41
	2. ChTr 100 γ		4		38		16	15	13	12	21
	Änderung 1.zu 2. in %		-50		+15		-81	-81	-81	-70	-49
V	1. Leerwert	90	3	14,5	31		37	35	33	28	39
	2. ChTr 100 γ		2,5		32		8	7	6	6	14
	Änderung 1. zu 2. in %		-17		+3		-78	-80	-82	-78	-64
VI	1. Leerwert	100	4	1,5	19		122	117	92	82	103
	2. ChTr 100 γ		3		15		5	4	4	3	10
	Änderung 1. zu 2. in %		-25		-21		-96	-97	-96	-96	-90

Vers. Nr		Qu. Ind.	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Ind.
VII	1. Leerwert	100	3	1	19		228	222	194	178	181
	2. Ch Tr 100 γ		0,5	2	11		61	61	59	54	144
	Änderung 1. zu 2. in %		-83		-42		-73	-72	-70	-70	-20
VIII	1. Leerwert	100	3	1	26		150	138	127	117	133
	2. Ch Tr 100 γ		1,5		19		12	11	10	10	21
	Änderung 1. zu 2. in %		-50		-27		-92	-92	-92	-91	-84
IX	1. Leerwert	90	4	1	23		190	170	150	130	150
	2. Ch Tr 100 γ		0,25		29		13	12	10	8	85
	Änderung 1. zu 2. in %		-93		+26		-93	-93	-94	-94	-44

Unabhängig von der Menge des zugegebenen Chymotrypsins fällt die Elastizität bei allen Versuchen im Durchschnitt um 80 bis 90 % gegenüber dem dazugehörigen Leerwert ab. Versuch VI und VII zeigen lediglich geringe, die Versuche I und II dagegen stärkere Zeichen von Pseudofibrinolyse. Es sind durchwegs alle Kurven vom fibrinogenolytischen Typ entsprechend den Trypsin-Thrombelastogrammen. Die Reaktionszeit r ist zwischen 13 und 97 % verkürzt, in der Mehrzahl der Fälle jedoch nicht unter 50 %. Bei den Trypsinkurven hingegen ist die Reaktionszeit r bis auf einen Versuch durchwegs um 83 bis 93 % verkürzt. Totallysis trat in keinem Versuch auf, was die geringe fibrinolytische Wirkung des Chymotrypsins zeigt.

II. Im V Fg T : ChTr 200 mg-%: 0,05 ccm = 100γ

1) Versuchsreihe:

1. Leerwert:

0,2 Fg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 NaCl + 0,1 Th 60 E/ccm La Roche

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,0"	5,2"	5,3"	5,1"	5,2"	5,2"	5,2"

2. ChTr 200 mg-% in verschiedenen Verdünnungen:

a) ChTr 1: 50 ; 0,05 ccm = 2 γ :

+ 0,05 ChTr 2γ + 0,05 NaCl + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
10,0"	66,4"	> 2'				

b) ChTr 1:100 ; 0,05 ccm = 1 γ :

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
6,5"	8,2"	9,3"	9,0"	16,0"	16,0"	16,0"

c) ChTr 1: 75 ; 0,05 ccm = 1,33 γ :

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
9,6"	11,7"	16,9"	21,5"	61,0"	120,0"	> 2'

2) Versuchsreihe:

1. Leerwert:

0,2 Fg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 NaCl + 0,1 Th 60 E/ccm La Roche

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,0"	5,1"	5,4"	5,0"	5,0"	5,0"	5,0"

2. ChTr 200 mg-%:

a) ChTr 1:75 ; 0,05 ccm = 1,33 γ :

+ 0,05 ChTr 1,33 γ + 0,05 NaCl + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
7,6"	11,5"	17,8"	36,0"	59,0"	79,5"	> 2'

3) Versuchsreihe:

1. Leerwert:

0,2 Fg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 NaCl + 0,1 Th 60 E/ccm La Roche

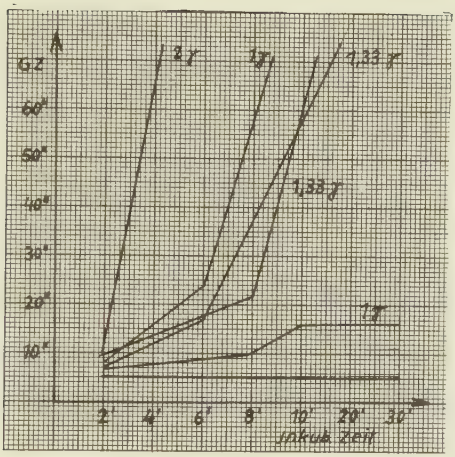
2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,7"	6,4"	6,6"	6,0"	6.3"	6,5"	6,8"

2. ChTr 200 mg-%:

a) ChTr 1:100 ; 0,05 ccm = 1 γ :

+ 0,05 ChTr 1 γ + 0,05 NaCl + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
8,9"	18,8"	21,0"	57,0"	93,0"	120,0"	> 2'



Graphische Darstellung der Chymotrypsin-Aktivität im VFgT

Das Chymotrypsin wirkt wie das Trypsin schon in kleinen Mengen stark fibrinogenolytisch, wie man aus den Fibrinogenolysekurven unschwer ersehen kann. Die tryptische Aktivität der Chymotrypsinlösungen ist jedoch im Gegensatz zu Trypsin selbst bei gleicher Konzentration bedeutend gleichmäßiger und stabiler.

B. Chymotrypsin-Hemmung durch Leber-Inhibitor:

I. Im T E G :

ChTr 200 mg-%: 0,05 ccm = 100 γ

LI (R 1548) 1000 IE/ccm ; 0,4 γ/IE

Vers. Nr.		Qu. Ind	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Ind
	1. Leerwerte	90	4	1	23		190	170	150	130	150
	2. Ch Tr unv. 100 γ		0,25		29		13	12	10	8	85
	Änderung 1. zu 2. in %		-93		+26		-93	-93	-93	-94	-44
	3. Ch Tr 100 γ + LI 50 IE		0,5		12		27	19	12	10	100
	Änderung 1. zu 3. in %		-87		-48		-86	-89	-92	-92	-33

Im Thrombelastogramm sehen wir mit Leber-Inhibitor, genau wie beim Trypsin, eine nur geringgradige Steigerung der Elastizität mit ausgeprägten Zeichen der Pseudofibrinolyse. Das TEG zeigt unregelmäßige Zacken, sowie ausgeprägte Schlierenbildung und ist in seinem gesamten Verlauf gekrümmt.

Die Ursache dürfte wiederum zu suchen sein in der antiadhäsiven Wirkung des Leber-Inhibitor, sowie in der teilweisen Fibrinogendenaturierung durch Chymotrypsin, bei nicht im Überschuß zugegebenen Inhibitor.

II. Im V Fg T : ChTr 200 mg-%: 0,05 ccm = 100 γ

LI (R 1548) 1000 IE/ccm; 0,4 γ/IE

1. Leerwert:

0,2 Fg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 NaCl + 0,1 Th 60 E/ccm La Roche

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,0"	5,2"	5,3"	5,1"	5,2"	5,2"	5,2"

2. ChTr 1:75 ; 0,05 ccm = 1,33 γ :

+ 0,05 ChTr 1,33 γ + 0,05 NaCl + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
9,6"	11,7"	16,9"	21,5"	61,0"	120,0"	2'

3. ChTr 1,33 γ + LI 1000 IE/ccm in verschiedenen Verdünnungen:

a) LI 100 IE/ccm: 0,05 ccm = 5 IE:

+ 0,05 ChTr 1,33 γ + 0,05 LI + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,2"	5,0"	5,5"	5,4"	5,7"	5,7"	5,8"

b) LI 50 IE/ccm: 0,05 ccm = 2,5 IE:

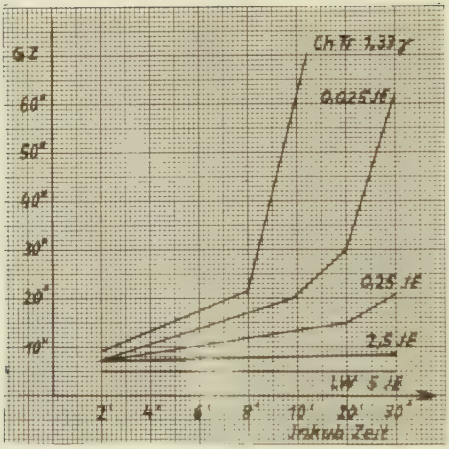
2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
7,0"	7,5"	8,0"	8,1"	8,3"	8,5"	8,5"

c) LI 5 IE/ccm: 0,05 ccm = 0,25 IE:

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
7,0"	8,0"	8,8"	10,5"	13,5"	14,4"	20,7"

d) LI 0,5 IE/ccm: 0,05 ccm = 0,025 IE:

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
8,0"	10,0"	11,5"	16,0"	21,0"	30,4"	62,0"



Graphische Darstellung der Chymotrypsin-Hemmung durch LI im VFgT

Die gerade noch völlig hemmende Menge Leber-Inhibitor gegenüber 1,33 γ Chymotrypsin liegt nach unseren Versuchen zwischen 5 IE und 2,5 IE Leber-Inhibitor. Auch bei 0,25 IE ist noch eine deutliche Hemmung erkennbar.

C. Chymotrypsin-Hemmung durch Parotis-Inhibitor:

OI (S 1771) 1000 IE/ccm ; 4 γ/IE

I. Im T E G : ChTr 200 mg-%: 0,05 ccm = 100 γ
OI 1000 IE/ccm

Vers. Nr.		Gu. Jnd	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Jnd
I	1. Leerwert	100	4	1,5	19		122	117	92	82	103
	2. Ch Tr unv. 100 γ		3		15		5	4	4	3	10
	Änderung 1. zu 2. in %		-25		-21		-96	-97	-96	-96	-90
	3. Ch Tr 100 γ + OJ unv 50 JE		1,5	5	18		59	56	47	43	103
	Änderung 1. zu 3. in %		-63		-6		-52	-52	-49	-47	0
II	1. Leerwert	90	3	14,5	31		37	35	33	28	39
	2. Ch Tr unv. 100 γ		2,5		32		8	7	6	6	14
	Änderung 1. zu 2. in %		-17		+3		-78	-80	-82	-78	-64
	3. Ch Tr 100 γ + OJ 50 JE		0,5	15	35		30	27	27	25	46
	Änderung 1. zu 3. in %		-83		+13		-19	-23	-18	-11	+17
III	1. Leerwert	90	3	14,5	31		37	35	33	28	39
	2. Ch Tr 100 γ		7		25		3	3	3	3	3
	Änderung 1. zu 2. in %		-57		-20		-92	-91	-91	-89	-92
	3. Ch Tr 100 γ + OJ 50 JE		1		16		12	11	7	6	39
	Änderung 1. zu 3. in %		-66		-48		-68	-69	-79	-78	0

Die Versuche I und II zeigen sehr schöne antifibrinolytische Effekte. Diese beiden Kurven weisen auch keinerlei Zeichen von Pseudofibrinolyse auf. Bei Versuch III hingegen ist der geringe Elastizitätsgewinn gegenüber der dazugehörigen Chymotrypsin-kurve eindeutig durch Pseudofibrinolyse bedingt. Die Kurve weist Schlieren und Zacken auf.

Die gute Darstellbarkeit des Parotis-Inhibitor liegt, wie schon erwähnt, an seiner geringen antiadhäsiven Wirkung.

Zur Ausführung des VFgT stand uns leider kein Parotis-Inhibitor mehr zur Verfügung.

D. Chymotrypsin-Hemmung durch Sojabohnentrypsin-Inhibitor:

SbI (S 5297)

I. Im T E G : ChTr 200 mg-%: 0,05 ccm = 100 γ
SbI 165 mg-%: 0,05 ccm = 82,5 γ

Vers Nr.		Qu. Ind	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Ind
	1. Leerwert	100	4	1,5	19		122	117	92	82	103
	2. Ch Tr unv. 100 γ		3		15		5	4	4	3	10
	Änderung 1. zu 2. in %		-25		-21		-96	-97	-96	-96	-90
	3. Ch Tr 100 γ + SbJ 82 γ		6,5	3	19		59	43	39	37	46
	Änderung 1. zu 3. in %		+62		0		-52	-64	-57	-55	-65

Im Thrombelastogramm zeigt sich nach Zugabe von Sojabohnentrypsin-Inhibitor ein deutlicher antifibrinolytischer Effekt. Wir erreichten mit 82,5 γ die Hälfte der Elastizität gegenüber dem Leerwert. In der Kurve sind aber deutliche Zeichen von Pseudofibrinolyse vorhanden, die ihren Grund in der antiadhäsiven Wirkung des Sojabohnentrypsin-Inhibitor und der stark fibrinogenolytischen Wirkung des Chymotrypsin haben. Auch hier wird die durch Sojabohnentrypsin-Inhibitor bedingte Reaktionszeitverlängerung durch Chymotrypsin weitgehend kompensiert.

II. Im V Fg T : ChTr 200 mg-%: 0,05 ccm = 100 γ
SbI 165 mg-%: 0,05 ccm = 82,5 γ

1. Leerwert:

0,2 Fg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 NaCl + 0,1 Th 60 E/ccm La Roche

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,0"	5,1"	5,4"	5,0"	5,0"	5,0"	5,0"

2. ChTr 1:75 ; 0,05 ccm = 1,33 γ :

+ 0,05 ChTr 1,33 γ + 0,05 NaCl + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
7,6"	11,5"	17,8"	36,0"	59,0"	79,5"	> 2'

3. ChTr 1,33 γ + SbI 165 mg-% in verschiedenen Verdünnungen:

a) SbI 1:300 ; 0,05 ccm = 0,27 γ :

+ 0,05 ChTr 1,33 γ + 0,05 SbI + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,5"	5,5"	5,6"	6,3"	7,0"	7,2"	7,0"

b) SbI 1: 500 ; 0,05 ccm = 0,16 γ :

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
6,6"	7,5"	7,5"	7,2"	11,0"	14,0"	15,0"

c) SbI 1:1000 ; 0,05 ccm = 0,082 γ :

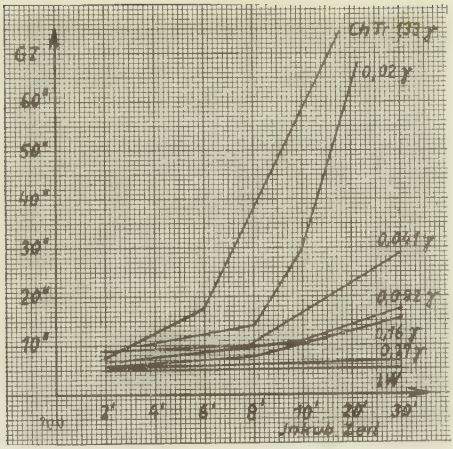
2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
7,1"	7,4"	8,1"	9,6"	11,0"	15,0"	17,5"

d) SbI 1: 2000 ; 0,05 ccm = 0,041 γ :

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
8,0"	10,0"	10,0"	10,0"	16,0"	25,4"	29,0"

e) SbI 1:4000 ; 0,05 ccm = 0,02 γ :

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
8,6"	11,5"	12,0"	14,0"	30,0"	63,0"	2'



Graphische Darstellung der Chymotrypsin-Hemmung durch SbI im VFgT

Mit 0,27 γ Sojabohnentrypsin-Inhibitor konnten wir noch eine vollkommene Hemmung der Fibrinogenolyse erzielen, die durch 1,33 γ Chymotrypsin ausgelöst wurde. Auch 0,16 γ und 0,082 γ Sojabohnentrypsin-Inhibitor zeigen noch eine deutliche Hemmung der Fibrinogenolyse.

E. Chymotrypsin-Hemmung durch Ei-Inhibitor:

I. Im T E G :

ChTr 200 mg-%: 0,05 ccm = 100 γ

EiI 500 mg-%: 0,05 ccm = 250 γ

Vers. Nr.		Qu. Ind.	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Ind.
I	1. Leerwert	100	3	1	18		233	222	163	133	180
	2. ChTr (1:4) 25 γ		2	1	7		72	43	33	25	180
	Änderung 1. zu 2. in %		-33		-61		-69	-81	-80	-81	0
	3. ChTr 25 γ + EiJ 250 γ		3	1,5	5		59	-	-	-	139
	Änderung 1. zu 3. in %		0		-72		-75	-100	-100	-100	-23
II	1. Leerwert	100	3	1	18		233	222	163	133	180
	2. ChTr (1:4) 25 γ		2	2	13		52	43	30	30	106
	Änderung 1. zu 2. in %		-33		-28		-78	-80	-82	-78	-41
	3. ChTr 25 γ + EiJ 250 γ		2	1	13		67	54	43	39	139
	Änderung 1. zu 3. in %		-33		-28		-72	-76	-74	-71	-23
III	1. Leerwert	100	4	1,5	19		122	117	92	92	103
	2 ChTr unv. 100 γ		3		15		5	4	4	3	10
	Änderung 1. zu 2. in %		-25		-21		-96	-97	-96	-96	-90
	3. ChTr 100 γ + Ei 250 γ		1	2	4		28	9	8	6	139
	Änderung 1. zu 3. in %		-75		-79		-77	-92	-91	-92	+35
IV	1. Leerwert	100	3	1	19		228	222	194	178	181
	2. ChTr unv. 100 γ		0,5	2	11		61	61	59	54	144
	Änderung 1. zu 2. in %		-83		-42		-73	-72	-70	-70	-20
	3. ChTr 100 γ + EiJ 250 γ		2	2	14		39	25	19	13	100
	Änderung 1. zu 3. in %		-33		-26		-83	-89	-90	-92	-45
V	4. ChTr 100 γ + EiJ 250 γ		1,5		5,5		16	3	2	2	83
	Änderung 1. zu 4. in %		-50		-71		-93	-98	-99	-99	-54

Vers. Nr		Qu. Ind.	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Ind.
VI	1. Leerwert	95	8	4	33		82	79	69	39	41
	2. Ch Tr unv. 100 γ		4		38		16	15	13	12	21
	Änderung 1. zu 2. in %		-50		+15		-81	-81	-81	-70	-49
	3. Ch Tr 100 γ + Ei J 250 γ		4		8		20	10	6	4	46
	Änderung 1. zu 3. in %		-50		-76		-75	-87	-91	-89	+12
VII	1. Leerwert	100	3	1	26		150	138	127	117	133
	2. Ch Tr unv. 100 γ		1,5		19		12	11	10	10	21
	Änderung 1. zu 2. in %		-50		-27		-92	-92	-92	-91	-84
	3. Ch Tr 100 γ + Ei J 250 γ		2		16		13	12	11	9	48
	Änderung 1. zu 3. in %		-33		-38		-91	-91	-91	-92	-64

Außer in Versuch III haben wir bei allen Kurven, die mit Ei-Inhibitor angefertigt wurden, noch eine zusätzliche Elastizitätsverminderung über die jeweils dazugehörigen Chymotrypsinkurven hinaus. Diese Elastizitätsverminderung ist jedoch nicht durch Fibrinolyse bedingt, sondern durch Pseudofibrinolyse. Die Kurven zeigen nämlich gröbste Verunstaltungen, wie sie nur durch Pseudofibrinolyse zustande kommen. Daß der Ei-Inhibitor gegenüber Chymotrypsin antiproteolytische Wirkung besitzt, konnten wir deutlich im visuellen Fibrinogenolyse-Test nachweisen. Außerdem beobachteten wir nach allen Versuchen, wie das Gerinnsel rund um den Stift förmlich aufgewickelt war. Gerade gegenüber Chymotrypsin scheint der Ei-Inhibitor eine besondere starke antiadhäsive Wirkung zu besitzen. Vielleicht

geht auch die Inaktivierung des Chymotrypsins so langsam vor sich, daß noch ein größerer Teil Fibrinogen denaturiert werden kann, als bei den anderen Inhibitoren.

II. Im V Fg T : ChTr 200 mg-%: 0,05 ccm = 100 γ
EiI 500 mg-%: 0,05 ccm = 250 γ

1. Leerwert:

0,2 Fg(0,6%) - 0,05 Puff. + 0,1 NaCl + 0,1 Th 60 E/ccm La Roche

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,0"	5,1"	5,4"	[illegible]	5,0"	5,0"	5,0"

2. ChTr 1:75 ; 0,05 ccm = 1,33 γ :

+ 0,05 ChTr 1,33 γ + 0,05 NaCl + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
7,6"	11,5"	17,8"	36,0"	59,0"	79,5"	> 2'

3. ChTr 1,33 γ + EiI 500 mg-% in verschiedenen Verdünnungen:

a) EiI 1:150 ; 0,05 ccm = 1,66 γ :

+ 0,05 ChTr 1,33 γ + 0,05 EiI + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
6,0"	7,0"	7,5"	7,6"	7,5"	8,0"	8,0"

b) EiI 1:300 ; 0,05 ccm = 0,83 γ :

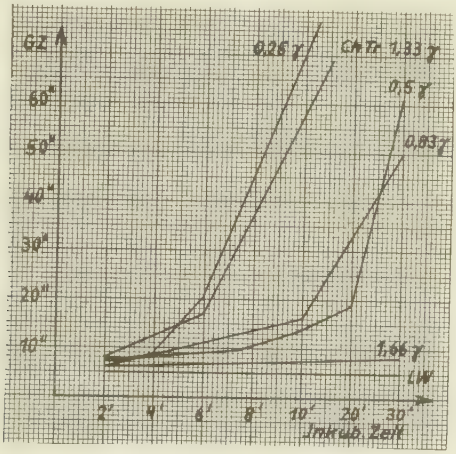
2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
6,0"	8,5"	9,4"	13,5"	15,0"	34,0"	50,0"

c) EiI 1:500 ; 0,05 ccm = 0,5 γ:

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
7,0"	8,5"	9,5"	10,5"	14,4"	19,7"	61,4"

d) EiI 1:1000; 0,05 ccm = 0,25 γ:

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
8,0"	9,1"	20,0"	50,0"	70,7"	> 2'	



Graphische Darstellung der Chymotrypsin-Hemmung durch EiI im VFgT

Im visuellen Fibrinogenolyse-Test konnten wir gegenüber einem mit 1,33 γ Chymotrypsin inkubierten Fibrinogen mit 1,66 γ Ei-Inhibitor noch eine etwa vollkommene Fibrinogenolysehemmung erzielen. Sie läßt bei kleineren Mengen jedoch rasch nach. Mit 0,25 γ Ei-Inhibitor war überhaupt kein Effekt mehr nachzuweisen.

F. Anhang: Chymotrypsin-Hemmung durch Proteinasen-Inaktivator im VFgT:

ChTr 200 mg-%: 0,05 ccm = 100 γ

ProtI (A 128/ S 2348) 1000 IE/ccm; 8 γ/IE

1. Leerwert:

0,2 Fg(0,6%) + 0,05 Puff.7,6 + 0,1 NaCl + 0,1 Th 60 E/ccm La Roche

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,0"	5,2"	5,3"	5,1"	5,2"	5,2"	5,2"

2. ChTr 1:75 ; 0,05 ccm = 1,33 γ :

+ 0,05 ChTr 1,33 γ + 0,05 NaCl + 0,1 Th

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
9,6"	11,7"	16,9"	21,5"	61,0"	120,0"	> 2'

3. ChTr 1,33 γ + ProtI 1000 IE/ccm in verschiedenen Verdünnungen:

a) ProtI 100 IE/ccm ; 0,05 ccm = 5 IE:

+ 0,05 ChTr 1,33 γ + 0,05 ProtI + 0,1Th

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
5,0"	5,3"	5,3"	5,5"	5,5"	5,5"	5,6"

b) ProtI 50 IE/ccm ; 0,05 ccm = 2,5 IE:

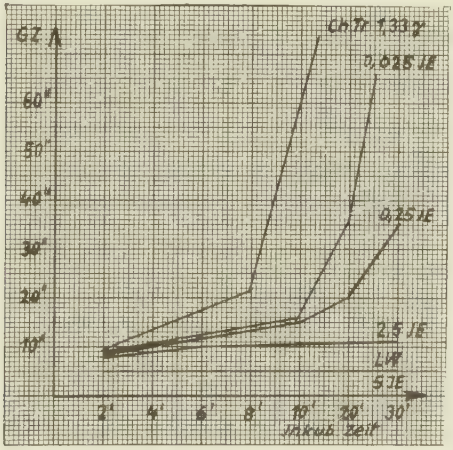
2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
8,0"	9,0"	10,0"	10,5"	10,6"	11,0"	11,0"

c) ProtI 5 IE/ccm ; 0,05 ccm = 0,25 IE:

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
7,5"	9,5"	11,0"	13,4"	14,4"	20,0"	35,0"

d) ProtI 0,5 IE/ccm ; 0,05 ccm = 0,025 IE:

2'	4'	6'	8'	10'	20'	30'
9,0"	9,5"	11,6"	13,5"	16,0"	36,5"	> 2'



Graphische Darstellung der Chymotrypsin-Hemmung
durch ProtI im VFgT

Mit 5 IE Proteinasen-Inaktivator erreichten wir gegenüber einem mit 1,33 γ Chymotrypsin inkubierten Fibrinogen eine totale Hemmung der Fibrinogenolyse. Auch mit 2,5 IE Proteinasen-Inaktivator ist die Hemmung noch etwa vollkommen, während bei 0,25 IE die Wirkung nur mehr schwach vorhanden ist.

6. Kapitel:

Zusammenfassung

A. Zusammenfassung der Methodenkritik:

I. Das Thrombelastogramm (TEG):

1) Im Thrombelastogramm können wir fibrinogenolytische und fibrinolytische Vorgänge an Hand zweier charakteristischer Kurvenformen unterscheiden:

   1. Ein durch Fibrinogenolyse bedingter Elastizitätsabfall zeigt folgenden typischen Kurvenverlauf:

   Wir erhalten ihn durch Zusatz von Fermenten mit vorwiegend fibrinogenolytischer Aktivität, wie Trypsin und Chymotrypsin.

   2. Ein durch Fibrinolyse bedingter Elastizitätsabfall wird im Thrombelastogramm folgendermaßen wiedergegeben:

   Diesen Kurventyp beobachten wir durch Zusatz von Plasmin oder durch Aktivierung des Profibrinolysin im Plasma durch Streptokinase, da Plasmin vorwiegend fibrinolytisch wirkt.

2) Grundsätzlich ist es möglich auch die Hemmung fibrinogenolytischer, sowie fibrinolytischer Prozesse durch entsprechende Substanzen im Thrombelastogramm darzustellen.

3) Ein Nachteil dieser Methode ist das eventuelle Auftreten der "Pseudofibrinolyse", d.h. das Auftreten eines scheinbar teilweisen bis vollkommenen Elastizitätsverlustes des Gerinnsels auf Grund seiner Ablösung von der Wand der Cuvette oder des Stiftes.
Besonders zur Pseudofibrinolyse neigen Thrombelastogramme vom fibrinogenolytischen Typ, weniger diejenigen vom fibrinolytischen Typ. Den Inhibitoren kommt eine gewisse "antiadhäsive Wirkung" (R. MARX) zu von verschiedener Stärke.

Für Pseudofibrinolyse halten wir folgende Kurvenveränderungen:

1. Zacken- und Stufenbildung der Kurvenlinien
2. Kurvenlinienverbreiterung auf mehr als 0,5 mm
3. Schlierenbildung in der Kurveninnenfläche.

4) Zur exakten Erfassung quantitativer Beziehungen zwischen Fibrinolytica und Antifibrinolytica ist das TEG schlecht geeignet, da man nur gröbere Unterschiede zwischen den einzelnen Kurven als sichere Zeichen der einwirkenden Substanzen werten darf, da die Abstufungsmöglichkeiten sowieso nicht groß sind und die Schwankungsbreite normaler TEG-Ansätze erheblich ist.

5) Die physiologischerweise stattfindende geringgradige Verschmälerung der Thrombelastogramme aller Gerinnsel, i.e. die nicht auf Fibrinolyse beruhende "Thrombuserschlaffung" nach HARTERT, konnten wir in dieser Arbeit vernachlässigen, da wir, wie schon erwähnt, nur starke Elastizitätsveränderungen als Ausdruck der Fibrinolyse werteten, sofern sie nicht pseudofibrinolytischer Natur waren.

II. Der visuelle Fibrinolyse-Test (V F T) :

1) Der visuelle Fibrinolyse-Test eignet sich gut zur Verfolgung fibrinolytischer Vorgänge unter der Sicht des Auges, wohingegen man Fibrinogenolyse nur indirekt beobachten kann, wenn das bei Inkubation proteolytischer Fermente entstehende Gerinnsel kleiner ist, als ein entsprechendes Gerinnsel ohne Enzymzusatz.

2) Der visuelle Fibrinolyse-Test ist zur exakten Aktivitätsbestimmung nur gegenüber Fibrinolytica geeignet, da hier rasch und eindeutig eine völlige Gerinnselauflösung erfolgt.

3) Der visuelle Fibrinolyse-Test ist nicht brauchbar zur Bestimmung von Fibrinogenolytica, da sich hierbei das Fibrin sehr langsam auflöst und der Zeitpunkt der völligen Fibrinolyse kaum zu bestimmen ist.

4) Der visuelle Fibrinolyse-Test eignet sich aus oben genannten Gründen vorzüglich zur Testung quantitativer Beziehungen zwischen Fibrinolytica und Antifibrinolytica.

III. Der visuelle Fibrinogenolyse-Test (V Fg T)
modifiziert nach R. MARX:

1) Im visuellen Fibrinogenolyse-Test verfolgen wir unter Sicht des Auges die nach Inkubation eines proteolytischen Fermentes auftretende Gerinnungszeitverlängerung, welche proportional der Fibrinogenolyse ist.

2) R. MARX modifizierte diesen Test in der Weise, daß er damit auch Antifibrinolytica in Hinsicht auf ihre antifibrinogenolytische Aktivität zu prüfen imstande ist. Dabei war es möglich, die jedesmalige Bestimmung des Ausmaßes der Fibrinogenolyse beiseite zu lassen, da wir uns auf den Grenzwert des Antifibrinolyticums bezogen, der gerade noch imstande ist, die Fibrinogenolyse während 30 Minuten zu verhindern bei bekannter Menge an Proteolyticum.

3) Der visuelle Fibrinogenolyse-Test eignet sich daher sehr gut exakte quantitative Beziehungen zwischen spezifisch fibrinogenolytisch wirkenden Fermenten und Antifibrinolyticis aufzustellen, weniger jedoch für spezifisch fibrinolytisch wirkende Fermente, da sie erst nach längeren Inkubationszeiten wirksam werden, weitgehend unabhängig von ihrer Dosierung.

4) Die Hauptschwierigkeit bei der Ausführung des visuellen Fibrinogenolyse-Testes besteht in der möglichen Abnahme der Aktivität der Trypsin- und Plasmin-Lösungen nach eini-

ger Zeit. Um die erhaltenen Ergebnisse zu sichern, muß man daher in größeren Zeitabständen die proteolytische Aktivität der verwendeten Lösung nachprüfen, sofern sich die Werte nicht entsprechend der Dosisverminderung an zugegebenem antifibrinolytischen Ferment, den Werten der am Anfang des Versuches gemachten Trypsin- bzw. Plasmin-Kurve nähern.

B. Zusammenfassung der mit den Fibrinolyticis Streptokinase, Plasmin, Trypsin und Chymotrypsin erhaltenen Ergebnissen.

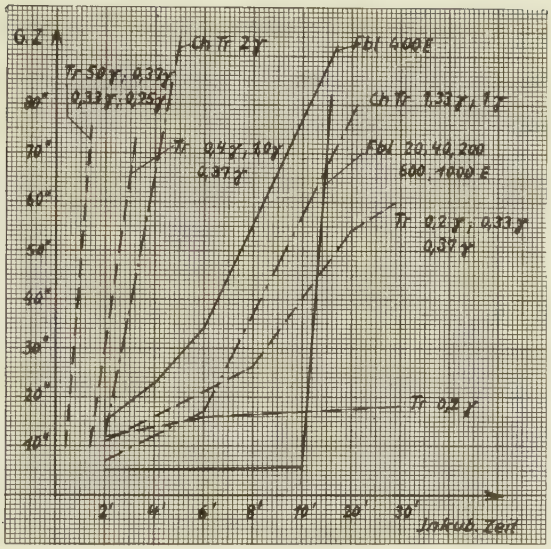
1) Im visuellen Fibrinolyse-Test führen

100 E (50γ)	Streptokinase	zur Totallysis nach	20" bis 80"
15 E (45γ)	Plasmin	zur Totallysis nach	160" bis 295"
50γ	Trypsin	zur Totallysis nach	16' bis 18' ungenau

Man sieht deutlich die überaus starke fibrinolytische Wirkung von Streptokinase. Demgegenüber tritt die fibrinolytische Wirkung von 15 E Fbl zurück. Es liegt daher nahe anzunehmen, daß in 0,2 ccm Plasma mehr Plasmin zur Aktivierung zur Verfügung steht als 15 E Fibrinolysin entspricht.

Die überaus schlechte Aktivität des Trypsins gegenüber Fibrin ist augenfällig.

2) Vereinfachte zusammenfassende graphische Darstellung der Fibrinogenolysekurven von Plasmin, Trypsin und Chymotrypsin:



Aus dieser Gegenüberstellung ergibt sich deutlich:

1. daß Plasmin auch in hohen Dosen (20, 40, 200, 600 und 1000 Einheiten) das Fibrinogen in den ersten 10 Minuten fast überhaupt nicht angreift.

2. daß Trypsin in kleinsten Mengen (0,25 γ) schon eine rasche Fibrinogenolyse hervorruft.

3. daß Chymotrypsin mit 1 γ bis 2 γ in gleicher Weise wie Trypsin wirkt, nur etwas schwächer.

C. Vergleichende Zusammenfassung der Fibrinolyse-Hemmung durch Leber-, Parotis-, Sojabohnen- und Ei-Inhibitor getestet im VFT an 0,2 ccm Plasma, das mit Streptokinase bzw. Plasmin inkubiert wurde.

		Plasma mit 100E SK aktiviert		Plasma mit 15E Fbl aktiviert	
		Leb.Inh.	Par.Inh.	Leb.Inh.	Par.Inh.
Lysisverzögerung durch	50,0 IE	24 Std.	24 Std.	24 Std.	24 Std.
	10,0 IE	1 Std.	160"		5 Std.
	5,0 IE	45'	40"	2 Std.	15'
	2,5 IE	9"	10"	26'	8'
	1,5 IE	160"	Ø	200"	
	1,25 IE	Ø	Ø	50"	120"
	0,75 IE	Ø	Ø	50"	30"
	0,5 IE	Ø	Ø	Ø	30"

		Plasma mit 100E SK aktiviert		Plasma mit 15E Fbl aktiviert	
		Sojab.Inh.	Ei-I	Sojab.Inh.	Ei-I
Lysisverzögerung durch	82,0 γ	ca. 8 Std.			
	8,2 γ	1 Std. 45'			
	4,1 γ	31'	Ø	35'	Ø
	1,64 γ	17'		11,5'	
	0,82 γ	15"		80"	
	0,41 γ	5"		50"	

Aus den zwei Tabellen kann man zusammenfassend deutlich entnehmen

1. daß der Leber-Inhibitor Plasmin und Streptokinase stärker hemmt als Parotis-Inhibitor in Hinsicht auf die Fibrinolyse. Bei beiden ist jedoch auffällig, daß sie Plasmin stärker hemmen als das durch Streptokinase aktivierte Plasmin.

2. Der Sojabohnentrypsin-Inhibitor wirkt ebenfalls in kleinsten Mengen stark fibrinolysehemmend. In Bezug auf die Hemmung von 15 E Fibrinolysin ist er etwa dem Leber-Inhibitor vom Reinheitsgrad 1,1 γ/IE gleichwertig. Bemerkenswert ist, daß der Sojabohnen-Inhibitor gegenüber Streptokinase stärker wirkt als Leber- und Parotis-Inhibitor.

3. Der Ei-Inhibitor zeigt bei unseren Methoden keine Hemmung von Plasmin oder Streptokinase.

D. Vergleichende Zusammenfassung der antifibrinogenolytischen Grenzwerte der verwendeten Antifibrinolytica.

1) Unter "antifibrinogenolytischem Grenzwert" verstehen wir diejenige Menge an Inhibitor, die eine Fibrinogenolyse während 30 Minuten noch eben zu verhindern vermag, ausgelöst durch Inkubation einer bekannten Menge proteolytischen Fermentes.
Dieser Grenzwert ist, wie schon erwähnt, deshalb von Interesse, weil man auf diese Weise eindeutige quantitative Beziehungen zwischen Fibrinolyticum und Antifibrinlyticum herstellen kann und so die Beziehungen zwischen Gerinnungszeitverlängerung und Ausmaß der Fibrinogenolyse umgehen kann. Es erübrigen sich dabei nämlich die sonst notwendigen exakten Nachprüfungen darüber:

1. wieviel Fibrinogen im jeweiligen Versuch entsprechend der Gerinnungszeitverlängerung zugrunde gegangen ist bzw. nicht zugrunde gegangen ist,

2. in welchem Ausmaß die Fibrinogenolyse nun tatsächlich gehemmt wurde entsprechend der Gerinnungszeitverkürzung nach Zugabe einer nicht völlig hemmenden Dosis an Antifibrinolyticum.

2) Zusammenfassung der von uns gefundenen "antifibrinogenolytischen Grenzwerte":

	Plasmin 400-600 E (1200-1800 γ)	Trypsin 0,25 γ - 0,33 γ	Chymotrypsin 1,33 γ
Leber-Inh.	6,25 IE	2,5 IE	5,0 IE
Parotis-Inh.	10,0 IE	2,5 IE	
Sojabohnen-Inh.	0,5 γ	0,082 γ	0,3 γ
Ei-Inh.	fast Ø	1,25 γ	2,0 γ
Proteinasen-Inh.	10,0 IE	2,5 IE	5,0 IE

Aus dieser Tabelle kann man zusammenfassend entnehmen:

1. Die absolut erforderliche Menge an Inhibitor erhöht sich zwar mit der Dosisgröße der verschiedenen Fibrinolytica, doch ist die Mengenbeziehung der einzelnen Fibrinolytica zu den Inhibitoren äußerst verschieden:

   a) Es genügen Bruchteile von Inhibitor um große Mengen Plasmin zu hemmen, was wiederum die geringe Spezifität des Plasmins gegenüber Fibrinogen zeigt.

   b) Hingegen braucht man zur Inaktivierung kleiner Mengen Trypsin die vielfache Menge an Inhibitor um es zu hemmen. Eine Ausnahme macht der Sojabohnen-Inhibitor.

   c) Auch bei Chymotrypsin ist eine größere Menge Inhibitor erforderlich, als der Menge an Chymotrypsin entspricht. Ausnahme: Sojabohnentrypsin-Inhibitor.

2. Die antifibrinogenolytische Wirkung von Leber-Inhibitor gegenüber Plasmin ist größer als die bei Parotis-Inhibitor und Proteinasen-Inaktivator, was den Ergebnissen bei der Fibrinolyse-Hemmung entspricht.

Gegenüber Trypsin und Chymotrypsin hemmen diese drei Substanzen etwa gleich stark.

3. Auffällig ist im Vergleich zu den anderen Inhibitoren die durchwegs ungewöhnlich starke antifibrinogenolytische Wirkung von Sojabohnentrypsin-Inhibitor.

4. Auch der Ei-Inhibitor zeigt in Bezug auf Fibrinogenolyse eine starke Trypsin- und Chymotrypsin-Hemmung.

Z w e i t e r T e i l : Studien über das Verhalten von recalcificiertem Kaninchencitratplasma gegenüber Streptokinase und Parotis-Inhibitor, sowie Darstellung fibrinolytischer und antifibrinolytischer Vorgänge am Kaninchen in vivo mit Hilfe des Nativblut-Thrombelastogrammes.

1. Kapitel:

Kaninchencitratplasma, sein Verhalten gegenüber Streptokinase und Parotis-Inhibitor.

A. S t r e p t o k i n a s e (SK) , ihre Eigenwirkung:

"V a r i d a s e" : Streptokinase 100 000 E
Streptodornase 25 000 E

I. Im T E G :

Vers. Nr.		Qu. Jnd	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Jnd
I	1. Leerwert	100	4	3	32		117	113	100	96	77
	2. Sk 12,5 E		3	1,5	45		41	37	39	39	89
	Änderung 1. zu 2. in %		-25		+40		-65	-67	-61	-59	+15
II	3. SK 50 E		2		3	180"	13	–	–	–	74
	Änderung 1. zu 3. in %		-50		-91		-89	-100	-100	-100	-4
III	4. SK 100 E		2		2,5	60"	2	–	–	–	14
	Änderung 1. zu 4. in %		-50		-91		-99	-100	-100	-100	-82
IV	1. Leerwert	100	2	4	52		92	89	89	85	67
	2. SK 25 E		3		4		12	10	10	10	62
	Änderung 1. zu 2. in %		+50		-92		-87	-89	-89	-88	-7
V	3. SK 50 E		2		3	150"	12	–	–	–	79
	Änderung 1. zu 3. in %		0		-97		-87	-100	-100	-100	+18

In Versuch III wurde das Kaninchenplasma mit 100 E Streptokinase aktiviert. Das Thrombelastogramm reagierte mit einem minimalen Ausschlag von 2 bei einer Reaktionszeitverkürzung um 50 % entsprechend einem TEG das mit Humanplasma ausgeführt wurde. Die beiden Versuche II und V wurden mit 50 E Streptokinase inkubiert und sind ihrer Form und Fläche nach fast genau kongruent. Nach steilem Anstieg auf 11 bis 13 % der Elastizität gegenüber dem Leerwert, fallen sie beide eben so steil wieder auf die O-Linie zurück, sie zeigen also ein typisch fibrinolytisches Aussehen. Bei Versuch I und IV ist das vordere Stück der Kurve ebenfalls vom fibrinolytischen Typ. Anscheinend reichte aber bei 25 E und 12,5 E Streptokinase die Aktivität des Plasmins nicht mehr aus, eine Totallysis herbeizuführen.

Das Kaninchenplasma verhält sich also im Thrombelastogramm gegenüber Streptokinase genau so wie das Humanplasma. Es treten ebenfalls Kurven vom fibrinolytischen Typ auf von etwa genau gleicher Größe wie beim menschlichen Plasma entsprechend der Stärke der Aktivierung. Pseudofibrinolyse fanden wir ebenfalls in keiner der Kurven.

II. Im V F T :

SK 100 E :

		Gerinng.	LT
0,2 Pl + 0,05 SK 100 E + 0,05 NaCl + 0,06 $CaCl_2$	1.	140,7"	80,5"
	2.	182,0"	14,3"

Auch im visuellen Fibrinolyse-Test bekommen wir mit Kaninchenplasma etwa die gleichen Werte wie beim Humanplasma. Diese Empfindlichkeit des Kaninchenplasmas gegenüber Streptokinase macht das Kaninchen zu einem geeigneten Versuchstier.

B. Streptokinase-Hemmung durch Parotis-Inhibitor:

OI (S 1771) 1000 IE/ccm; 4 γ/IE

Im V Fg T : OI 1000 IE/ccm

1. SK 100 E :

	Gerinng.	LT
0,2 Pl + 0,05 SK 100 E + 0,05 NaCl + 0,06 $CaCl_2$	140,7"	80,5"

2. OI 1000 IE/ccm:

+ 0,05 OI unv.: 50,0 IE	150,0"	ca.24 Std	
+ -"- 1: 5: 10,0 IE	143,8"	159,0"	
+ -"- 1:10: 5,0 IE	249,2"	29,5"	
+ -"- 1:20: 2,5 IE	240,0"	10,0"	

Der Parotis-Inhibitor hemmt die Fibrinolyse, die mit 100 E Streptokinase am Kaninchenplasma ausgelöst wurde, etwa in gleicher Weise wie beim Humanplasma:

50,0 IE	verzögern die Lysis um	ca. 24 Std.
10,0 IE	-"-	80"
5,0 IE	verkürzen die Lysis gegenüber SK um	50"
2,5 IE	-"-	70"

Die Ursache der Lysiszeitverkürzung gegenüber Streptokinase bei 2,5 IE und 5 IE Parotis-Inhibitor um 50" bzw. 70" konnten wir nicht klären.

2. Kapitel:

In-vivo-Versuche an Kaninchen unter Verwendung von Streptokinase als Fibrinolyticum und Leber-Inhibitor, Parotis-Inhibitor, sowie Proteinasen-Inaktivator als Antifibrinolytica, dargestellt im Nativblut-TEG.

A. Streptokinase (SK), ihre Eigenwirkung in vivo:

"Varidase": Streptokinase 130 000 E
Streptodornase 21 600 E

Vers. Nr.	Versuch I - VII : Jnj. i. V.	Qu. zeit	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Jnd.
I	1. Leerwert	9,6"	11	5	65		127	96	125	122	42
	2. SK 65000 E : 3' n. Jnj	10,5'	7		28		8	6	5	3	9
	Änderung 1. zu 2. in %		-36		-57		-94	-94	-96	-97	-78
	3. SK 65000 E : 30' n. Jnj	11,2"	8		17	27	12	-	-	-	14
	Änderung 1. zu 3. in %		-27		-74		-91	-100	-100	-100	-94
	4. SK 65000 E : 4 Std. n. Jnj.	9,6"	11	7	35		102	79	96	96	34
	Änderung 1. zu 4. in %		0		-46		-20	-18	-23	-21	-19
II	1. Leerwert	11,2"	5	5	38		108	96	96	92	52
	2. SK 32500 E : 6' n. Jnj	12,0"	13		13	15'	2	-	-	-	3
	Änderung 1. zu 2. in %		+160		-66		-98	-100	-100	-100	-94
	3. SK 32500 E : 38' n. Jnj		7		18		22	9	6	5	22
	Änderung 1. zu 3. in %		+40		-52		-80	-90	-94	-95	-58
	4. SK 32500 E : 2 Std. 13' n. J.	11,0"	5	5	56		106	92	100	96	56
	Änderung 1. zu 4. in %		0		+48		-1	-1	+1	+1	+7
III	1. Leerwert	10,5"	5	4	62		147	125	144	142	64
	2. SK 10000 E : 6' n. Jnj.	15,6"	13		30		23	22	4	2	15
	Änderung 1. zu 2. in %		+160		-52		-84	-85	-97	-98	-77

Vers. Nr		Qu. Zeit	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Jnd.
IV	1. Leerwert	10,5"	13	9	62		69	45	67	67	24
	2. SK 10000 E: 2'n. Jnj	12,4"	0,25		2	90"	5	-	-	-	72
	Änderung 1.zu2. in%		-98		-97		-93	-100	-100	-100	+200
V	1. Leerwert		6	2	40		174	163	170	163	128
	2. SK 6250E: 3'n. Jnj		8	12	24		28	27	25	23	25
	Änderung 1. zu 2. in %		+33		-40		-84	-83	-85	-86	-81
VI	1. Leerwert		10	8	75		135	85	130	127	41
	2. SK 6000 E: 9'n. Jnj		9	10	22		28	20	11	10	25
	Änderung 1. zu 2. in %		-10		-71		-79	-76	-91	-92	-39
VII	1. Leerwert		5	3	52		178	150	170	163	93
	2. SK 3000 E: 3'n. Jnj		15	5	26		43	35	6	5	27
	Änderung 1. zu 2. in %		+200		-50		-76	-76	-96	-97	-71
VIII	Versuch VIII: Jnj. subcut.										
	1. Leerwert	8,0"	10	7	88		115	69	102	113	30
	2. SK 20000 E: 20'n. Jnj	8,6"	12	6	83		119	72	104	117	32
	Änderung 1. zu 2. in %		+20		-6		+3	+4	+2	+3	+7
	3. SK 20000 E: 45'n. Jnj	8,0"	18	11	103		85	30	69	82	20
	Änderung 1. zu 3. in %		+80		+17		-26	-57	-32	-28	-33
	4. SK 20000 E: 3Std. n. Jnj	8,0"	9		78		100	64	89	96	30
	Änderung 1. zu 4. in %		-10		-12		-14	-7	-13	-15	0
IX	Versuch IX: Jnj: i.m										
	1. Leerwert	9,7"	19	8	81		92	37	72	89	18
	2. SK 15000 E: 15'n. Jnj	9,8"	17	8	78		89	39	82	89	19
	Änderung 1. zu 2. in %		-11		-4		-3	+5	+14	0	+5
	3. SK 15000 E: 1Std 15'n. J.	9,7"	4	7	60		108	82	100	96	50
	Änderung 1. zu 3. in %		-79		-26		+9	+121	+39	+8	+178

Zusammenfassung der prozentualen Änderung

der TEG-Werte sowie r und LT.

Vers. Nr	Versuche I - VII : Jnj. i.v.	r	K_2	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Jnd	r	LT
I	Leerwert	100	100	100	100	100	100	100		
	SK 65000 E : 3' n. Jnj	64	43	6	6	4	3	22		
	SK 65000 E : 30' n. Jnj.	73	26	9	0	0	0	33	8'	27'
	4 Std. n. Jnj	100	54	80	82	77	79	81		
II	SK 32500 E : 6' n. Jnj.	260	34	2	0	0	0	6	13'	15'
	38' n. Jnj.	140	48	20	10	6	5	42		
	2 Std. 13' n. Jnj	100	148	99	99	101	101	107		
III	SK 10000 E : 6' n. Jnj.	260	48	16	15	3	2	23		
IV	SK 10000 E : 2' n. Jnj.	2	3	7	0	0	0	300	15"	90"
V	SK 6250 E : 3' n. Jnj.	133	60	16	17	15	14	19		
VI	SK 6000 E : 9' n. Jnj.	90	29	21	24	9	8	61		
VII	SK 3000 E : 3' n. Jnj.	300	50	24	24	4	3	29		
	Versuch VIII : Jnj. subcut.									
VIII	SK 20000 E : 20' n. Jnj.	120	94	103	104	102	103	107		
	45' n. Jnj	180	117	74	43	68	72	67		
	3 Std. n. Jnj.	90	88	86	93	87	85	100		
	Versuch IX : Jnj i.m.									
IX	SK 15000 E : 15' n. Jnj.	89	96	97	105	114	100	105		
	1 Std. 15' n. Jnj	21	74	109	221	139	108	278		

Alle Versuche wurden an Kaninchen gemacht, denen zuvor noch keine Streptokinase injiziert worden war. Nach der Streptokinaseinjektion traten klinisch nie Unverträglichkeitserscheinungen auf.

Die zusammenfassende Tabelle zeigt sehr schön die Abnahme der Elastizität der Gerinnsel in Abhängigkeit von der Einwirkungszeit und der verwendeten Dosis. Dabei kann man grundsätzlich beobachten, daß die Elastizitätsabnahme umso stärker ist, je schneller nach der Streptokinaseinjektion die Blutabnahme erfolgt und je höher die Dosis ist. Ebenso ist die Dauer der Streptokinas-Wirkung umso länger, je größer die injizierte Menge ist. Im Versuch I sehen wir, daß nach Injektion von 65 000 E Streptokinase die Elastizität des Gerinnsels, das in der 4. Stunde nach der SK-Injektion angesetzt wurde, die Elastizität des Leerwertes noch nicht ganz erreicht, während das Nativblut-TEG, das 2 Stunden nach der Injektion von 32 500 E Streptokinase abgenommen wurde, die Elastizität des dazugehörigen Leerwertes wieder völlig erreicht hat (vgl. Versuch II). Der Ersatz des zugrunde gerichteten Fibrinogens bzw. die Inaktivierung des Plasmins geht also ziemlich rasch vor sich. Im Versuch VII konnten wir noch 3 Minuten nach Injektion von 3000 E Streptokinase eine Elastizitätsminderung um 76 % herbeiführen. Im Versuch VI haben wir 9 Minuten nach Verabreichung von 6000 E Streptokinase eine Elastizitätsminderung um 80 bis 90 %. In Versuch IV erhielten wir 2 Minuten nach Injektion von 10 000 E Streptokinase eine schnellere Totallysis als in Versuch I und II mit 65 000 E

und 32 500 E Streptokinase. Es ist daher anzunehmen, daß das Plasminpotential bzw. die Aktivierbarkeit des Plasmins durch Streptokinase bei Kaninchen unterschiedlich sein kann.

Die Kurven der Versuch IV und I (nach 30' angefertigt) besitzen ein typisch fibrinolytisches Aussehen mit rascher Totallysis, steilem Kurvenanstieg und ohne Zeichen der Pseudofibrinolyse. Die Thrombelastogramme der Versuche III, VI, VII und II (aufgenommen 38' nach Injektion) haben ebenfalls die ersten 30 bis 50 Minuten typisch fibrinolytische Form mit vereinzelten ganz geringen Zeichen der Pseudofibrinolyse. Daß die Kurven keine Totallysis erreichen, ist wahrscheinlich durch die mangelnde Plasminaktivität begründet.

Die beiden Thrombelastogramme aufgenommen 3 Minuten nach Injektion von 65 000 E Streptokinase (Versuch I) und 6 Minuten nach Injektion von 32 500 E Streptokinase (Versuche II) zeigen fibrinogenolytischen Verlauf mit Zeichen der Pseudofibrinolyse. Offensichtlich entwickelt das Plasmin unter stärkster Aktivierung durch Streptokinase vermehrt fibrinogenolytische Eigenschaften, soweit das mit dieser Methode feststellbar ist.

Durch unsere im ersten Teil der Arbeit gemachten Untersuchungen über die spezifisch fibrinolytische Eigenschaft des Plasmins erscheint es überhaupt als wahrscheinlich, daß das Fibrinogen selbst im kreisenden Blut erst nach hohen Dosen von Streptokinase bzw. Plasmin angedaut wird.

Bei intramuskulärer und subcutaner Verabreichung von Streptokinase konnten wir nur einen geringen fibrinolytischen Effekt erzielen, verglichen mit der intravenösen Injektion.

B. Streptokinase-Hemmung durch Leber-Inhibitor in vivo:

LI (R 1564) 4 000 IE/ccm ; 5,9 γ/IE

		Qu Zeit	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Ind
	1. Leerwert	105"	5	4	62		147	125	144	142	64
	2. SK 10 000 E : 6' n. Inj. zugl. Inj. v. LJ 8000 JE	15,6"	13		30		23	22	4	2	15
	Änderung 1. zu 2. in %		+160		-52		-84	-85	-97	-98	+77
	3. SK 10000 E : 18' n. Inj LJ 8000 E : 12' n. Inj	10,5"	2	9	24		69	67	54	47	45
	Änderung 1. zu 3. in %		-60		-61		-53	-46	-63	-67	-30

Unter der Einwirkung von Leber-Inhibitor stieg die maximale Elastizität des Gerinnsels gegenüber dem Streptokinasewert um knapp das Dreifache an. Wir sehen also, daß es durch-aus möglich ist, das Plasmin in vivo durch Leber-Inhibitor zu hemmen.

Leider konnten wir weitere Versuche mit Leber-Inhibitor nicht machen, weil wir nur sehr wenig zur Verfügung hatten.

C. Streptokinase-Hemmung durch Parotis-Inhibitor in vivo:

OI (S 1771) 1000 IE/ccm ; 4 γ/IE

Vers. Nr		Qu. zeit	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Ind.
I	1. Leerwert		10	8	75		135	85	130	127	41
	2. Sk 6000 E: 9' n. Inj zugl. Inj. v. OJ 4000 E		9	10	22		28	20	11	10	25
	Änderung 1. zu 2. in %		-10		-71		-79	-76	-91	-92	-39
	3. SK 6000 E : 12' n. Inj OJ 4000 JE : 3' n. Inj		13	6	45		82	72	43	16	32
	Änderung 1. zu 3. in %		+30		-40		-41	-15	-67	-87	-22
II	1. Leerwert	11,2"	5	5	38		108	96	96	92	92
	2. OJ 4000 JE : 2' n. Inj zugl. Inj. von 32500 SK	12,2"	6	5	50		133	113	130	127	52
	Änderung 1. zu 2. in %		+20		+31		+23	+17	+35	+27	0
	3. OJ 4000 JE : 8' n. Inj SK 32500 E : 6' n. Inj	12,0"	13		13		2	-	-	-	3
	Änderung 1. zu 3. in %		+160		-66		-98	-100	-100	-100	-94
	4. OJ 4000 JE : 40' n. Inj. SK 32500 E : 38' n. Inj.		7		18		22	9	6	5	22
	Änderung 1. zu 4. in %		+40		-52		-80	-90	-94	-95	-58
	5. OJ 4000 JE : 2 Std 15' n.J. SK 32500 E: 2 Std 13' n.J.	11,0"	5	5	56		106	92	100	96	56
	Änderung 1. zu 5. in %		0		+48		-1	-1	+1	+1	+7

Auch beim Parotis-Inhibitor konnten wir in Versuch I nach Injektion von 4000 IE eine Steigerung der maximalen Elastizität um knapp das Dreifache gegenüber dem Streptokinasewert erreichen. Leider zeigt das Thrombelastogramm im weiteren Verlauf erhebliche Zeichen von Pseudofibrinolyse.

Spritzt man den Parotis-Inhibitor 2 Minuten voraus, wie wir es in Versuch II taten, so können wir keine Hemmung der fibrinolytischen Streptokinasewirkung finden. Dies ist nicht verwunderlich, nachdem bekannt ist, daß sowohl der Parotis-Inhibitor als auch der Leber-Inhibitor innerhalb 1 bis 2 Minuten fast völlig durch die Nieren ausgeschieden werden.

D. Streptokinase-Hemmung durch Proteinasen-Inaktivator:

ProtI (A 128/S 2348) 1000 IE/ccm ; 8 γ/IE

		Qu Zeit	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Ind.
	1. Leerwert	10,5'	13	9	62		69	45	67	67	24
	2. SK 10000 E : 2' n. Inj. 3' später Inj. v. Prot J 4000 JE	12,4'	0,25		2		5	-	-	-	72
	Änderung 1. zu 2. in %		-98		-97		-93	-100	-100	-100	+200
	3. SK 10000 E : 10' n. Inj. Prot J 4000 E : 5' n. Inj	11,0'	13	10	31		35	33	33	32	21
	Änderung 1. zu 3. in %		0		-50		-50	-28	-51	-52	-12

Mit dem Proteinasen-Inaktivator konnten wir hier ebenfalls einen eindeutigen und eindrucksvollen fibrinolysehemmenden Effekt erzielen. Bei einer Streptokinaseinjektion von 10 000 E und einem Abfall der maximalen Elastizität nach 2 Minuten um 93 %, erreichten wir durch Injektion von 4000 IE Proteinasen-Inaktivator einen Elastizitätsanstieg auf die Hälfte des Leerwertes.

3. Kapitel:
Zusammenfassung der Versuchsergebnisse mit recalcificiertem Kaninchencitratplasma und den in-vivo-Versuchen an Kaninchen.

1) Recalcificiertes Kaninchencitratplasma reagiert in gleicher Weise im Thrombelastogramm und im visuellen Fibrinolyse-Test auf die Aktivierung mit dem von uns verwendeten Streptokinasepräparat und auf Parotis-Inhibitor wie Humanplasma.

2) Das Nativblut-Thrombelastogramm ist eine brauchbare Methode, die in vivo durch Streptokinaseinjektion ausgelösten fibrinolytischen Vorgänge zu registrieren, weil Pseudofibrinolyse kaum zu beobachten ist.

3) Die durch intravenöse Injektion von Streptokinase in vivo ausgelöste Proteolyse zeigt sich im Thrombelastogramm mit typisch fibrinolytischen Kurven.

4) Es ist möglich, durch intravenöse Applikation von Leber-Inhibitor, Parotis-Inhibitor und Proteinasen-Inaktivator die mit Streptokinase intravenös ausgelöste Fibrinolyse in vivo zu hemmen.

5) Nach subcutaner und intramuskulärer Streptokinaseinjektion konnten wir beim Kaninchen mit der bisher von uns verabreichten Dosis des verwendeten Präparates nur einen geringen fibrinolytischen Effekt nachweisen.

Anhang: Versuch eines Nachweises der möglicherweise anti-proteolytischen Wirkung von R a s t i n o n "D 860" an Hand von Streptokinase, Plasmin und Trypsin im T E G und V Fg T .

I. Im T E G :

Streptokinase

Trypsin 100 mg-%: 0,05 ccm = 50 γ

"D 860" 10 mg/ccm: 0,05 ccm = 500 γ

Vers. Nr.	mit SK	Qu. Ind.	r	K_1	K_2	LT	m_ε	B^{30}	B^{60}	B^{90}	Ind.
I	1. Leerwert	100	4	1,5	21		156	150	133	122	103
	2. SK 100 E		4		5	120"	1,5	-	-	-	9
	Änderung 1. zu 2. in %		0		-76		-99	-100	-100	-100	-91
	3. SK 100 E + "D 860" 500 γ		4		5	120"	1,5	-	-	-	9
	Änderung 1. zu 3. in %		0		-76		-99	-100	-100	-100	-91
II	mit Trypsin										
	1. Leerwert	100	3,5	6	33		147	138	133	117	102
	2. Tr 50 γ		0,25	13	24		28	27	25	23	74
	Änderung 1. zu 2. in %		-93		-27		-81	-80	-81	-80	-27
	3. Tr 50 γ + "D 860" 500 γ		0,25		12		18	10	8	7	37
	Änderung 1. zu 3. in %		-93		-64		-88	-93	-94	-94	-64

II. Im V F T :

1) Versuchsreihe: Streptokinase

"D 860" 10 mg/ccm; 0,05 ccm = 500γ

1. SK 100 E :

	Gerinng.	LT
0,2 Pl + 0,05 SK 100 E + 0,05 NaCl + 0,06 $CaCl_2$	141,0"	53,2"

2. "D 860" 10 mg/ccm:

+ 0,05 "D 860" unv.: 500γ	113,0"	76,2"
+ -"- 1:3 : 166γ	103,1"	44,0"

2) Versuchsreihe: Fbl(300E/mg) 100 mg-%; 0,05 = 15E

"D 860" 10 mg/ccm; 0,05 ccm = 500γ

1. Fbl 15 E :

	Gerinng.	LT
0,2 Pl + 0,05 Fbl 15 E + 0,05 NaCl + 0,06 $CaCl_2$	152,0"	239,0"

2. "D 860" 10 mg/ccm:

+ 0,05 "D 860" unv.: 500γ	141,0"	180,0"
+ -"- 1:3 : 166γ	145,0"	195,6"

Mit den angewendeten Methoden konnten wir für Rastinon "D 860" weder an Trypsin noch an Streptokinase und Plasmin eine fibrinolysehemmende Wirkung nachweisen.

Diese Tatsache erscheint deswegen bemerkenswert, weil nach MIRSKY (69) "D 860" bzw. Rastinon ein spezifisch Insulin abbauendes proteolytisches Ferment "Insulinase" hemmen soll mit dem Effekt einer längeren, intensiveren Wirkung des Insulins in vivo.

Abkürzungsverzeichnis

1 mg-% = 1 mg Trockensubstanz auf 100 ccm phys. NaCl gelöst

Verdünnungen wurden angegeben wie folgt: z.B.
Trypsin 1:5, d.h. 1 Teil Trypsin-Lösung wurde durch Zugabe von 4 Teilen phys. NaCl auf die fünffache Verdünnung gebracht.
Alle Verdünnungen wurden mit phys. NaCl hergestellt, wenn nicht anders angegeben.

Tests:

TEG = Thrombelastogramm
VFT = visueller Fibrinolyse-Test
VFgT = visueller Fibrinogenolyse-Test

Fibrinolytica:

SK = Streptokinase
Fbl = Fibrinolysin, Plasmin
Tr = Trypsin
ChTr = Chymo-Trypsin

Antifibrinolytica:

1 IE = 1 Inhibitor-Einheit
LI = Leber-Inhibitor
OI = Ohrspeicheldrüsen-Inhibitor, Parotis-Inhibitor
SbI = Sojabohnentrypsin-Inhibitor
EiI = Ei-Inhibitor
ProtI = Proteinasen-Inaktivator

Verschiedene Abkürzungen:

Ädrg.	=	Änderung
$CaCl_2$	=	Calciumchlorid-Lösung 1,29 %
1 E	=	1 Einheit
Fg	=	Fibrinogen
G.Z.	=	Gerinnungszeit
Inkub.Z.	=	Inkubationszeit
Inj.	=	Injektion
LT	=	Lysis totalis, i.e. völlige Auflösung des Fibrins
LW	=	Leerwert
n.	=	nach
NaCl	=	physiologische Kochsalzlösung
Pl	=	Plasma
Puff.7,6	=	Puffer p_H 7,6
Qu Ind	=	Quick-Index bzw. Prothrombin-Index bestimmt mit der Einphasenmethode nach Quick
Qu Zeit	=	Quick-Zeit, i.e. die Zeit, mit Hilfe derer der Quick-Index berechnet wird
Th	=	Thrombin
unv.	=	unverdünnt
zgl.	=	zugleich

Literaturverzeichnis

1 Dastré A.: Arch. Physiol. 5 (1893), 661

2 Rulot H.: Maly's Jahresber. für Tierchemie (1904), 245

3 Morawitz P.: Hofmeister Beitr. 8,1

4 Nolf P.: Arch. int. Physiol. 16 (1921), 374;
18 (1921), 549; 19 (1922), 227

5 Hougardy A.: Ann. de Physiol. 10 (1934) 40, 52, 65

6 Marx R.: Blut 1 (1955), 276

7 Hekma E.: Biochem. Z. 62 (1914),161; 53 (1914),184, 204

8 Rosenmann M.: Biochem. Z. 112 (1920), 100; 128 (1922),373

9 Rosenmann M.: Biochem. Z. 287 (1936), 26

10 Kline D.L.: J. biol. Chem. 204 (1953), 949

11 Denys J. u. de Marbaix H.: Cellule 5 (1889), 197

12 Loeb L. u. Fleischer: Journ. biol. Chemie 21 (1915), 477

13 Schmitz A.: Z. f. Physiol. Chemie 244 (1936), 89

14 Dyckerhoff H.: Biochem. Z. 268 (1933), 17

15 Ungar G. u. Mist S.H.: J. exper. Med. 90 (1949), 39

16 Tillet L.M. u. Garner R.L.: J. exper. Med. 58 (1933), 485

17 Milstone J.H.: J. Immunol. 42 (1941), 109

18 Christensen L.R. u. MacLeod C.M.: J.gen.Physiol.28 (1945),559

19 Müllertz St.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 82, 231 (1953)

20 Ungar G. u. Mist S.H.: J. exper. Med. 90 (1949), 39

21 Kaplan M.H.: J. clin. Inv. 25 (1946), 337, 347, 352

22 Anderson H.C., Kunkel H.G. u. McCarty M.:
J. clin. Incest. 27 (1948), 425

23 Ratnoff O.D.: J. exp. Med. 87 (1948), 199

24 Hildebrandt H.: Virch. Arch. pathol. Anat. 131 (1893), 5

25 Rosenmann M.: Biochem. Z. 120 (1922), 101

26 Kaplan M.H.: J. clin. Inv. 25 (1946), 337

27 Grob D.: J. Gen. Physiol. 26 (1943), 405

28 Christensen L. R.: J. clin. Pathol. 28 (1949), 170

29 Marx R.: Blut 1 (1955), 276

30 Dastré A.: Arch. phys. norm. et path. 5 (1893), 661

31 Delezenne C. u. Pozerski F.: Compt.rend.Soc.biol.55 (1903),327

32 Mac Farlane R.G.: Lancet 1 (1937), 10

33 Imperati L.: Riforma med. 53 (1937), 1694

34 Mac Farlane R.G. u. Biggs R.: Blood 3 (1948), 1171

35 Marx R. u. Roesch W.: Inaug. Diss. (1953) München

36 Halse Th. u. Lossnitzer H.: Dtsch.med.Wschr. 25 (1949), 790

37 Soulier J.P.: Compt.rend.du 3^{me} Congrès de la Soc.Europ. d'Hematologie, Rom 1952

38 Marx R.: Blut 1 (1955), 275

39 Dragstedt C.A.: Physiol. Rev. 21 (1941), 563

40 Hartert H.: Zschr. f. d. ges.exp.Med. 117 (1951), 192

41 v. Kaulla K.N.: Blood April 1955

42 Beller F.K., Koch F. Mammen E.: Blut 2 (1956), 113

43 Della Santa R. u. Duraffourd P.: 5th Internat.Congr. Haemat., Paris 1954

44 Marx R. u. Kimmerling W.: Inaug. Diss. 1953 München

45 Ferguson J.H.: "Howells Textbook of Physiology" (1947)

46 Marx R. u. Bayerle H.: Hoppe-Seyler's Ztschr.f.physiol. Chemie 283 (1949), 215

47 Ungar G.: The Lancet 1 (1947), 708

48 Ungar G. u. Mist S.H.: J. exp. Med. 90 (1949), 39

49 Christensen L.R.: J. clin. Invest. 28 (1949), 163

50 Astrup T. u. Permin P.M.: Nature 161 (1948), 689

51 Lewis J.H., Ferguson J.H. u. Jackson: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 72 (1949), 703

52 Lewis J.H. u. Ferguson J.H.: J. clin. Invest. 29 (1950),1059

53 Permin P.M.: Nature 160 (1947), 571

54 Müllertz St. u. Lassen M.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 82 (1953), 264

55 Rocha e Silva M. u. Rimington C.: Biochem. J. 43 (1948), 163

56 Soicher R.R., Richards P. u. Rose B.: J. Lab. Clin. Med. 43 (1954), 495

57 Northrop J.H. u. Kunitz M.: Science 73 (1931), 262; J. gen. Physiol. 16 (1932), 267, 295

58 Kunitz M. u. Northrop J.H.: J. gen. Physiol. 19 (1936), 991

59 Kunitz M.: J. gen Physiol. 22 (1938), 447

60 Kunitz M. u. Northrop J.H.: J. gen. Physiol. 18 (1935), 433

61 Fruton J.S. u. Bergmann M.: J. biol. Chem. 145, ( ), 253

62 Werle E. u. Appel W.: 20. intern. Physiol. Kongr. Brüssel (1956)

63 Kraut H., Frey E.K. u. Werle E.: Monographie "Padutin" Ferd. Enke Verlag, Stuttgart 1952

64 Werle E., Maier L. u. Ringelmann R.: Naturwiss. 39 (1952),328

65 Laskowsky L.: Methods in Enzymol.,II, (New York 1955), 36

66 Deutsch E.: Blutgerinnungsfaktoren, (1955), 205

67 Balls A.K. u. Swenson T.L.: J. biol. Chem. 106 (1934), 419

68 Lineweaver H. u. Murray C.W.: J.biol.Chem. 171 (1947), 565

69 Mirsky I.A.; Simkin B., Broh-Kahn R.H.: Arch.Biochem. 28 (1950), 415

L E B E N S L A U F

Am 20. Februar 1932 wurde ich, Peter Carl Maria Clemente, als Sohn des Tierarztes Dr. Carl Clemente und seiner Ehefrau Gertraud, geb. Micheler in Altenmarkt/Alz geboren. Dort ging ich 4 Jahre in die Volksschule. Von 1942 bis 1951 besuchte ich die Oberrealschule in Traunstein, an der ich im Juli 1951 die Reifeprüfung ablegte. Im Sommer 1952 begann ich das Medizinstudium an der Universität München und legte im Februar 1954 die ärztliche Vorprüfung ab. Auch das klinische Studium verbrachte ich an der Universität München, ausgenommen der 2. und 3. klinischen Semester, in denen ich in Innsbruck und Paris studierte. Im Frühjahr 1957 möchte ich die ärztliche Prüfung ablegen.